



# **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA**

## **Tumor venéreo transmisible en caninos, presentación clínica, diagnóstico y tratamiento**

### **TESINA**

Para optar el Título de Médico Veterinario

### **AUTOR**

**Jessyca Esther Loyola Angeles**

LIMA – PERÚ  
2014

A mi madre, por todo el amor y apoyo que siempre me brindó y aunque no haya alcanzado a ver los resultados de su trabajo, se que siempre me acompaña y guía mis pasos desde el cielo.

A mi padre y hermanos por apoyarme, cada uno a su manera, durante todos los años de mi carrera y de mi vida.

A mi mamama, quien me inculcó ese amor por los animales, ayudándome siempre a curar cada animalito que le llevé cuando era niña.

A Juan por su amor y comprensión, por ser mi fuerza y apoyo incondicional a pesar de la distancia y por confiar en mí muchas veces más que yo misma.

A Pelusa, Keysi y Luquitas, mis fieles compañeros, que con una mirada, lamida o ladrido me hacen recordar lo mucho que amo mi profesión.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los Doctores Luis Tabacchi y Rosa Perales,  
por brindarme su tiempo, sugerencias, conocimiento  
y experiencias para la elaboración de la tesina y sobre  
todo por hacerme sentir nuevamente como en casa.

A los doctores Víctor Fernández, Pedro  
Ángulo y Alexei Santiani, por su apoyo y sugerencias  
en las revisiones de esta tesina.

A Omar por las enseñanzas y consejos  
brindados durante la elaboración de la tesina.

A mis amigos Betty, Karlita, Denisse,  
Richard, Juan, Patty, Victor y Juanito por acompañarme  
en estos días de regreso a la facultad.

## INDICE

	<b>Pág.</b>
LISTA DE CUADROS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Definición del Tumor Venéreo Transmisible.....	3
2.2 Etiología.....	3
2.3 Epidemiología.....	5
2.4 Modo de transmisión .....	8
2.5 Inmunidad y regresión .....	9
2.6 Diagnóstico .....	12
2.6.1 Diagnóstico Clínico .....	12
2.6.2 Diagnóstico Patológico .....	16
2.6.2.1 Lesiones Macroscópicas .....	16
2.6.2.2 Lesiones Microscópicas.....	26
Citología.....	26
Histopatología.....	30
Histoquímica.....	31
2.7 Tratamiento .....	32
2.7.1 Cirugía.....	32
2.7.2 Radioterapia.....	33
2.7.3 Quimioterapia.....	33
2.7.4 Inmunoterapia.....	37
2.8 Pronóstico .....	39
III. CONCLUSIONES.....	40
IV. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	42

## LISTA DE CUADROS

	Pág.
<b>CUADRO N°1.</b> Registro de casos y frecuencia de TVT canino en el Laboratorio de Histopatología de la FMV – UNMSM. Periodo 1948 – 2010 .....	7

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Modelo de la evasión del sistema inmune durante la fase progresiva y de la respuesta inmune durante la fase regresiva del TVT .....	10
<b>Figura 2.</b> TVT vulvar con presencia de secreción piosanguinolenta .....	13
<b>Figura 3.</b> TVT en el bulbo del pene con presencia de secreción sanguinolenta .....	13
<b>Figura 4.</b> TVT en la base del pene, que no permite la retracción del prepucio.....	14
<b>Figura 5.</b> Secreción mucosanguinolenta en un caso de TVT nasal.....	15
<b>Figura 6A.</b> TVT intranasal con aumento del volumen facial .....	16
<b>Figura 6B.</b> TVT en tercer párpado asociado a secreción periocular .....	16
<b>Figura 7.</b> TVT genital de forma multinodular.....	17
<b>Figura 8.</b> TVT genital con forma nodular ubicada en el vestíbulo .....	18
<b>Figura 9.</b> TVT en vulva y vagina .....	18
<b>Figura 10.</b> TVT en el glande del pene.....	19
<b>Figura 11A.</b> TVT con forma de coliflor en la base del pene.....	20
<b>Figura 11B.</b> TVT con forma multinodular en el bulbo peneano .....	20
<b>Figura 12.</b> TVT ubicado en el prepucio .....	20
<b>Figura 13.</b> TVT cutáneo, con múltiples nodulaciones .....	21
<b>Figura 14A.</b> TVT cutáneo, ulcerado, con bordes engrosados .....	21
<b>Figura 14B.</b> TVT cutáneo con forma de coliflor.....	21
<b>Figura 15A.</b> TVT nasal .....	22
<b>Figura 15B.</b> TVT en cavidad oral .....	22
<b>Figura 16A.</b> TVT en cavidad oral, multilobulado y ulcerado .....	22
<b>Figura 16B.</b> TVT en cavidad oral, ubicado en paladar duro.....	22
<b>Figura 17.</b> TVT en cavidad nasal, oral y faringe .....	23
<b>Figura 18.</b> TVT intraocular .....	24

<b>Figura 19.</b> TVT en la conjuntiva palpebral .....	24
<b>Figura 20A.</b> TVT metastásico a cerebro .....	25
<b>Figura 20B.</b> TVT metastásico a bazo .....	25
<b>Figura 21A.</b> TVT en cuerpo uterino.....	25
<b>Figura 21B.</b> TVT de forma nodular en útero .....	25
<b>Figura 22.</b> Esquema de dos tipos citomorfológicos del TVT .....	27
<b>Figura 23.</b> Muestra citológica de TVT de patrón linfocitoide .....	28
<b>Figura 24.</b> Muestra citológica de TVT de patrón plasmocitoide. ....	28
<b>Figura 25.</b> Muestra citológica de TVT de patrón mixto.....	29
<b>Figura 26.</b> Histopatología de TVT vaginal .....	30
<b>Figura 27.</b> Núcleo de células de TVT, observándose puntos de AgNOR dispersos en el núcleo y en el nucléolo .....	32
<b>Figura 28.</b> Estructura química de la Vincristina.....	34
<b>Figura 29.</b> Estructura química de la Doxorrubicina .....	36

## **I. INTRODUCCIÓN**

El Médico Veterinario de práctica privada de animales menores encuentra problemas de diversas patologías en la actividad diaria que realiza. En este sentido es común que se presenten consultas oncológicas. Las neoplasias pueden presentarse en diferentes tejidos y órganos siendo las neoplasias de piel y glándulas mamarias las más frecuentes en caninos (Moulton, 1978).

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) es la neoplasia más frecuente dentro de las neoplasias del tracto reproductor (Dextre, 2011), su localización es genital o extragenital afectando tanto a hembras como machos (Mendoza, 2006). El TVT se propaga principalmente por el coito, siendo su prevalencia incrementada en las ciudades donde hay una alta concentración de perros vagabundos y un pobre control de crianza. (Doliger, 2005).

Las características de las células de esta neoplasia son las de una neoplasia maligna, sin embargo, el comportamiento de la neoplasia al tener buenos resultados con el tratamiento hacen que la consideren como benigna (Alvarez, 2001).

El diagnóstico presuntivo de la neoplasia se puede realizar con la anamnesis, características macroscópicas de la neoplasia así como su ubicación y la realización de la citología exfoliativa sin embargo para el diagnóstico definitivo se requiere realizar una biopsia para el estudio histopatológico. El tratamiento es importante para buscar la regresión de la neoplasia, siendo el tratamiento más efectivo el sulfato de vincristina. Esta droga puede producir en el paciente algunos efectos colaterales como: mielosupresión, leucopenia, efecto gastrointestinal entre otros (Calvet *et al.*, 1982; Doliger, 2005).



El objetivo de la presente revisión bibliográfica es proveer información sobre el Tumor Venéreo Transmisible en caninos abarcando temas como: presentación clínica, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de tal manera que el médico veterinario clínico pueda tener mayor conocimiento de esta patología.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Definición del Tumor Venéreo Transmisible**

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) también conocido como sarcoma infeccioso, tumor venéreo contagioso, granuloma venéreo, linfosarcoma transmisible, tumor transmisible de células reticulares, condiloma canino o tumor de Sticker, (Moulton, 1978; Mello y Ferreira, 2004), es una neoplasia de células redondas de la cual se sospecha que tiene un origen histiocítico (Rivera y Nuñez, 2005; De Lorimier y Fan, 2007), que se transmite principalmente mediante el coito o por conductas sociales de lamido o contacto directo con el tumor (Johnson, 2000). Se observa en los perros domésticos (*Canis familiaris*) y potencialmente en otros cánidos sociales como el lobo gris (*Canis lupus*) y el coyote (*Canis latrans*) (VonHoldt y Ostrander 2006; De Lorimier y Fan, 2007).

### **2.2 Etiología**

No se conoce la etiología exacta que causa el TVT, pero debido al carácter de transmisión que tiene, se consideró inicialmente que podía estar involucrado un agente viral o bacterias clamidias, a pesar de que algunos autores han descrito inclusiones intracitoplasmáticas en las células tumorales que fueron interpretadas como imágenes de elementos celulares en degeneración, las partículas virales no han podido ser aisladas. (Trigo y Mateos, 1993; Mello y Ferreira, 2004; Rivera y Nuñez, 2005).

El TVT, actualmente es considerado un trasplante celular alogénico o aloinjerto, de ocurrencia natural, que se transmite mediante la exfoliación y el trasplante de células neoplásicas viables hacia la mucosa genital de un hospedador susceptible durante el apareamiento o por contacto oronasal durante las conductas sociales (Muller *et al.*, 1990; Mello y Ferreira, 2004; Murchinson, 2009).

Estudios citogenéticos realizados con muestras de TVT de los cinco continentes han demostrado que el TVT canino tiene un cariotipo relativamente constante de 59 cromosomas, con un rango descrito de 57 a 64. De los 59 cromosomas, de 13 a 17 son metacéntricos y 42 a 46 son acrocéntricos, en contraste con el cariotipo del perro normal de 78 cromosomas, 76 acrocéntricos y 2 metacéntricos. (Jhonson, 2000; De Lorimier y Fan, 2007; Murchinson, 2009). Esta remarcable similitud, sugieren un origen común de la distribución global y demuestran que a pesar de tener un cariotipo aneuploide, son relativamente estables (Murchison, 2009).

La neoplasia probablemente se originó de una línea celular de larga data que se desarrollo de un solo clon; algunos investigadores sugieren que estas células probablemente no fueron de un hospedador canino (Moulton, 1978), mientras que otros, basados en datos obtenidos de estudios inmunológicos, citogenéticos y de secuencias de nucleótidos, creen que esta neoplasia surgió de una alteración genética específica de histiocitos caninos, seguido de la transmisión de células anormales de perro a perro (Mc Gavin y Zachary, 2007). Estudios genéticos moleculares realizados por Murgia *et al.*, (2006) indicaron que el TVT está cercanamente relacionado al ADN de lobos y perros de razas del este asiático y que posiblemente tenga una antigüedad que oscila entre 200 a 2500 años. Estudios recientes, realizados por Murchinson *et al.*, (2014) determinaron, mediante el análisis del genoma del TVT, que este cáncer surgió en un perro que vivió hace 11 000 años, y que sufrió cerca de 2 millones de mutaciones, pero que aún alberga las variantes genéticas del perro que dio su origen, el análisis de estas variantes genéticas revelaron que este perro puede haberse parecido a un Alaska Malamute o Husky.

Los TVTs poseen elementos nucleares largos entremezclados o largos de ADN repetido entremezclado o LINE-1 (Murgia *et al.*, 2006), que son considerados como retroposones no virales, que se encuentran cerca al gen c-myc (Lorimier y Ventilator, 2007). Este reordenamiento ha sido identificado en TVTs de distribución mundial y no se encuentra en otros tejidos, por lo cual es considerado una evidencia diagnóstica (Murgia *et al.*, 2006). Es posible que este reordenamiento se presentara en la línea germinal del fundador de TVT, que ocurrió somáticamente durante el desarrollo del tumor o que ocurrió en un clon del TVT que logró posteriormente la distribución global. (Murchinson, 2009)

El TVT junto con el Tumor Facial del Demonio de Tasmania (TFDT) son los únicos tumores transmitidos naturalmente en forma de aloinjerto. Ambos tumores tienen características semejantes, aunque el TFDT tiene un crecimiento más agresivo y puede causar la muerte del animal (Murchison, 2009).

El origen celular del TVT es desconocido, pero se presume es de células neoplásicas redondas no diferenciadas de origen histiocítico (De Lorimier y Fan, 2007). Esto se mantiene debido a que las células neoplásicas expresan inmunorreactividad a la lisozima y la antitripsina alfa, junto con un marcador de macrófagos caninos, lo que apoya una histiogénesis del linaje de los monocitos y los macrófagos del TVT, ya que estos antígenos no son expresados por otras células mesenquimales redondas, excepto las de origen histiocítico. (Mukaratirwa y Gruys, 2004; Medleau y Hnilica, 2007), aunque algunos investigadores no han confirmado estos hallazgos mediante estudios inmunohistoquímicos realizados en tejidos congelados (Mascarenhas *et al.*, 2014). Además dos estudios describieron células de TVT con organismos de *Leishmania spp.* a nivel intracelular, un organismo que normalmente infecta macrófagos, esto también sugeriría un origen histiocítico. (Albanense *et al.*, 2002; De Lorimier y Fan, 2007; Kegler *et al.*, 2012).

### **2.3 Epidemiología**

La primera descripción del TVT en caninos encontrada en la literatura es atribuida a un investigador llamado Huzard en 1820 (Moulton, 1978). Luego fue descrito por Nowinsky en 1876, quién demostró que el tumor puede ser trasplantado de un hospedador susceptible a otro mediante inoculación de células tumorales viables, siendo el primero en obtener resultados positivos en trasplantes de tumores (Jubb *et al.*, 1991; Trigo y Mateos, 1993; Mello y Ferreira, 2004). Esta enfermedad continuo siendo motivo de estudios para muchos autores, siendo Sticker en 1904 quien describió de forma detallada esta neoplasia caracterizándola como un linfosarcoma de localización predominantemente venérea, motivo por el cual se denominó linfosarcoma de Sticker (Chiti y Amber, 1992 citado por Vascomcelos *et al.*, 2007).

El TVT tiene una distribución mundial y parece ser muy variable según la región geográfica, se localiza en áreas enzoóticas incluidas el Sur de Estados Unidos, América Central y del Sur, ciertas partes de África, Lejano Oriente, Oriente medio y el Sur de Europa, sobretodo en grandes ciudades o en países en, donde la cría de perros es poco controlada, y encontramos gran cantidad de perros que vagan por la calle (Trigo y Mateos, 1993; De Lorimier y Fan, 2007).

Además, se encuentra una prevalencia mayor en zonas de clima tropical y subtropical (Mello y Ferreira, 2004). El incremento de la lluvia y la media anual de temperatura son correlacionadas positivamente con la prevalencia. Se diagnostican casos ocasionales en secciones que son libres de TVT tras viajes a un área endémica (De Lorimier y Fan, 2007).

El TVT puede afectar a ejemplares de cualquier raza, aunque se observa sobretodo en animales sin raza definida (Amaral, 2005; Rivera y Nuñez, 2005; Hupples *et al.*, 2014), lo que puede estar relacionado a familias de bajas condiciones socio – económicas, que no pueden adquirir animales de razas definidas, las cuales permiten que sus canes tengan libre acceso a la calle y no tienen suficiente cuidado con respecto a las funciones reproductivas de estos (Morales y Gonzales, 1995; Vasconcelos *et al.*, 2007). Calvert *et al.*, en 1982, sugirieron que los perros de raza grande, con pesos mayores a los 18 a 20 kg son los más susceptibles.

Esta neoplasia está presente en perros sexualmente activos, siendo los más afectados aquellos que fluctúan entre 1 y 5 años, probablemente por la gran actividad sexual que desempeñan a esas edades (Diaz, 1993; Ortega *et al.*, 2003; Mendoza, 2006), aunque también puede presentarse en animales gerontes (Hupples *et al.*, 2014) y algunos autores han reportado casos de TVT extragenitales en canes que aún no han llegado a la madurez sexual (Mateus *et al.*, 2013). No muestra predisposición sexual manifiesta (Muller *et al.*, 1990), reportando algunos investigadores una incidencia ligeramente mayor en machos (Amaral, 2004), mientras que otros encuentran una mayor incidencia en hembras, relacionándolo con el hecho de que estas aceptan un gran número de machos durante el celo, además de que la acción hormonal produce un entumecimiento vulvar, garantizando un mayor suministro sanguíneo para los genitales, favoreciendo de esta forma la implantación de las células tumorales (Sousa *et al.*, 2000; Vasconcelos *et al.*, 2007; Hupples *et al.*, 2014).

En el área de Lima, el TVT ha sido reportado desde 1948 a 2011, con frecuencias variables desde 3,9% a 12,9% (Cuadro N°1), ocupando el primer lugar dentro de las neoplasias benignas (Castro, 1985; Diaz, 1991; De Vivero, 2009), además es la neoplasia más frecuente dentro de las neoplasias del tracto reproductor (Dextre, 2011) y de las neoplasias del sistema urogenital (Takano, 1964; Rodriguez, 1978; Diaz, 1993).

**Cuadro 1:** Registro de casos y frecuencia de TVT canino en el Laboratorio de Histopatología de la FMV – UNMSM. Periodo 1948 – 2010

Periodos (años)	N° casos con TVT	Total de neoplasias caninas	Frecuencia (%)	Referencia
<b>1948 – 1963</b>	18	154	11,7	Takano (1964)
<b>1964 – 1977</b>	39	303	12,9	Rodríguez (1978)
<b>1978 - 1983</b>	32	303	10,6	Castro (1985)
<b>1984 - 1989</b>	8	121	6,6	Díaz (1991)
<b>1990 – 1994</b>	3	76	3,9	San Martín (2005)
<b>1998 - 2004</b>	78	925	8,4	Mendoza (2006)
<b>1995 - 2006</b>	72	1092	6,6	De Vivero (2009)
<b>2007 - 2010</b>	39	3093	*1,26	Dextre (2011)

\* Frecuencia de TVT ubicado sólo en el tracto reproductor del perro macho.

Debe considerarse que el TVT en la práctica diaria, muchas veces recibe tratamiento por los hallazgos macroscópicos, sin previo diagnóstico microscópico, lo cual limita de alguna manera el hallazgo de la verdadera frecuencia en nuestro país (Mendoza, 2006).

La localización genital es la que presenta una mayor incidencia, (Morales y Gonzales, 1995; Ortega, *et al.*, 2003; Pineda *et al.*, 2010), Brandão *et al.*, (2002) reportan una frecuencia de 68.6% de TVT genital en la ciudad de Sao Paulo, encontrando también formas extragenitales, dentro de las cuales, la presentación cutánea y nasal fueron las más frecuentes (12,6%), seguido de la cavidad oral (2.9%), globo ocular (2.5%) y ano (0.8%), coincidiendo con Amaral (2005) quien reporta 89.6% TVT genital, seguido por la presentación primaria nasal con 5,9%, en Botucatu, Brasil. Chikweto *et al.*, (2013) en Granada encontró una frecuencia de 16.7% de TVT extragenital, siendo el lugar más frecuente el tejido subcutáneo, este último siendo reportado por Amaral (2004) como el lugar con mayor presentación de metástasis. Mendoza (2006), en Lima, también encontró una mayor frecuencia de TVT genital (79.49%), seguida de la extragenital primaria (14,10%), siendo la ubicación más frecuente, la mucosa nasal, coincidiendo con los reportes de Grandez *et al.*, (2011), también reportan casos en párpados, mucosa oral y útero.

Es probable que la mayor incidencia del TVT en nuestro medio se deba a que la población canina está comprendida por un gran número de perros vagabundos, ya sea por el estado de abandono o por el poco control de parte de sus dueños, quienes permiten que el animal permanezca gran parte del día en la vía pública, teniendo un estrecho contacto con otros animales y una reproducción indiscriminada. (Díaz, 1991; Mendoza, 2006).

Ortega *et al.*, (2003) y Pineda *et al.*, (2010) afirman que los perros callejeros cumplen un papel de reservorio en la diseminación de la enfermedad. Un estudio realizado en la ciudad de Mérida (México) por Ortega encontró una baja prevalencia (2.6%), mientras que estudios realizados por Pineda en el Distrito Federal y el Estado de México, encontraron frecuencias entre 12,44 a 33,33%, siendo estas últimas ciudades más grandes y con una mayor población de perros callejeros.

## **2.4 Modo de transmisión**

El TVT es una neoplasia altamente contagiosa y es virtualmente la única trasmisible mediante el trasplante celular por contacto directo, la transmisión venérea es la más común (Nuñez, 2005), ocurre primariamente sobre las superficies mucosas de los genitales externos de los machos y hembras caninos y requiere de la implantación de células intactas, no es trasmisible por filtrados celulares o células muertas (Jubb *et al.*, 1991; Jhonson, 2006; VondHold y Ostrander, 2006).

El TVT también se puede trasplantar mediante lamido, olfateo, estornudos, arañazos y el contacto directo con el tumor durante interacciones sociales con otros perros (Jhonson, 2006; Medleau y Hnilica, 2007), facilitándose la implantación del tumor por la presencia de alguna lesión o por la pérdida de la integridad en la superficie de la mucosa (Mello y Ferreira, 2004; De Lorimier y Fan, 2007).

Las lesiones pueden desarrollarse en lugares extragenitales, debido a auto o heterotransplantes de un TVT genital, pudiendo también presentarse de forma primaria, sin haber lesiones genitales presentes. (Das y Das, 2000). Las metástasis son raras y su incidencia varía de 0 a 17%, con una media de 5%, (Moulton, 1978; Trigo y Mateos, 1993; Afonso *et al.*, 2004), por lo general se presenta en animales en los cuales el tumor persiste por un periodo mayor de 2 meses (Sousa *et al.*, 2000), ocurriendo usualmente en perros que se encuentran en condiciones fisiológicas subóptimas, como inmunosupresión, parasitosis y mal nutrición

(Chikweto *et al.*, 2013), permitiendo la transmisión de células de TVT vía corriente sanguínea y linfática y su instalación en diferentes tejidos (Fernandes *et al.*, 2013).

Mateus *et al.*, (2013) sugiere que es posible que los cachorros adquieran el TVT durante el pasaje a través del canal de parto, por el contacto con un tumor intravaginal asintomático; además puede transmitirse de una madre con TVT a sus cachorros mediante el contacto del tumor de la madre con las membranas mucosas de los cachorros (oral, nasal, ocular o anal) durante la interacción entre ellos. La transmisión también puede ser establecida por inyección de células viables por vía subcutánea, endovenosa e intraperitoneal y mediante escarificación de la piel y mucosas (Muller *et al.*, 1990).

Algunos autores consideran que el periodo de latencia para el desarrollo del tumor puede estar en el rango de los 2 a los 6 meses (De Lorimier y Fan, 2007), mientras que otros consideran un rango menor de 15 y 60 días, pudiendo permanecer en crecimiento lento o imperceptible por muchos años, o presentándose invasivo o metastásico (Mello y Ferreira, 2004).

## **2.5 Inmunidad y regresión**

El desarrollo del TVT está mediado por el sistema inmune, donde la manifestación de la enfermedad representa el resultado de la evasión del balance de las estrategias del sistema inmune sobre la respuesta inmune del hospedador (Murchinson, 2009; Stockmann *et al.*, 2011).

Los TVT caninos tienen inicialmente fases de crecimiento y progresión (P), seguido de estancamiento y regresión espontánea (R) en animales inmunocompetentes, o diseminación en perros inmunodeprimidos y cachorros inoculados. (Mello y Ferreira, 2004; De Lorimier y Fan, 2007).

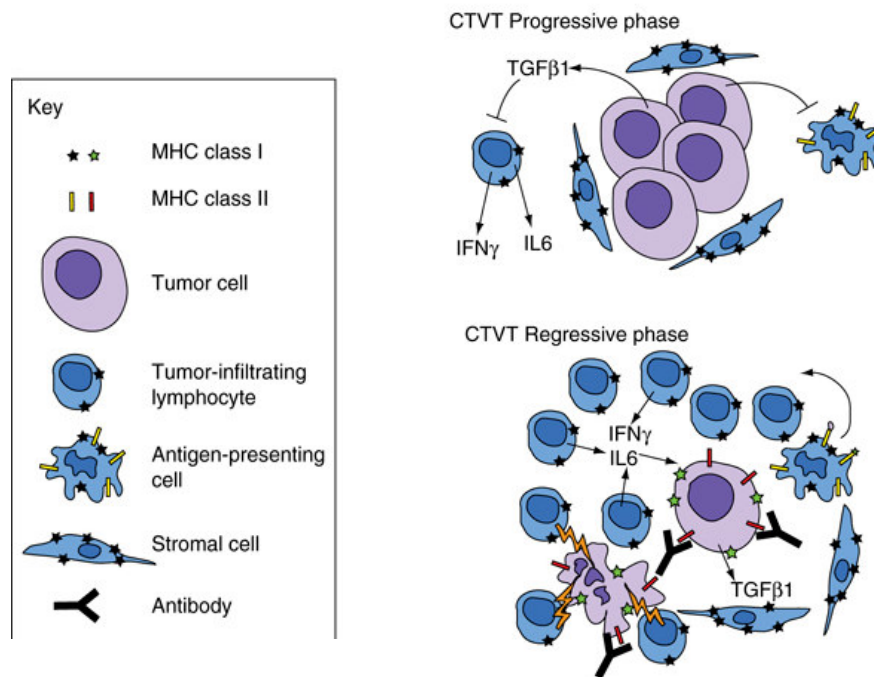
Durante la fase P, las células del TVT limitan la expresión de las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I e inhiben las del MHC clase II (Murgia *et al.*, 2006; De Lorimier y Fan, 2007, Murchinson, 2009). La inducción de la expresión del MHC es causada por citoquinas producidas por los linfocitos T infiltrantes (TILs) (Murchinson, 2009), los cuales se ha demostrado que se encuentran en un mayor número durante la fase R (De Lorimier y Fan, 2007).

Hsiao *et al.*, (2004) encontró que las células del TVT en fase P producen una citoquina llamada factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- $\beta$ 1), la cual inhibe la actividad de las



células natural killer (NK), así como la infiltración de linfocitos T citotóxicos en el tumor. Sin embargo, en la fase R se incrementa la producción de interleucina – 6 (IL-6), citoquina pro-inflamatoria secretada por los TILs, la cual antagoniza los efectos de TGF- $\beta$ 1 y restaura la actividad de las células NK (Hsiao *et al.*, 2004; Vonholdt y Ostrander, 2006; De Lorimier y Fan, 2007).

Hsiao *et al.*, (2008) encontró que el hospedador deriva IFN- $\gamma$  cuando la IL6 llega a un nivel umbral, actúa sinérgicamente con esta, permitiendo a los TILs inducir la expresión del MHC I y II en las células del TVT, desencadenando la regresión. Además la IL6 induce la expresión de MHC in vitro y puede inducir la expresión del MHC in vivo en combinación con la IL15 (Murchinson, 2009) (Figura 1).



**Figura 1.** Modelo de la evasión del sistema inmune durante la fase progresiva y de la respuesta inmune durante la fase regresiva del TVT (Murchinson, 2009)

Los linfocitos circulantes de perros en fase post regresión tienen efectos inhibitorios o citotóxicos en las células del TVT, al contrario de los linfocitos de perros normales o de perros portadores en fase P (De Lorimier y Fan, 2007).

Así como el TVT desencadena una respuesta inmune celular, este también produce una respuesta inmune humoral. Ha sido demostrado un antígeno asociado al tumor y los niveles circulantes parecen positivamente correlacionados con el volumen tumoral, con desaparición 48 a 72 horas tras la extirpación del tumor (De Lorimier y Fan, 2007). Sin embargo, los niveles de anticuerpos en el suero no están correlacionados con el volumen del tumor, estos son indetectables en el suero de cachorros con metástasis y pocas células de TVT en metástasis pueden ser detectados con anti-anticuerpos (Murchinson, 2009). Los complejos inmunes circulantes se detectaron en perros con TVT pero se desconoce la importancia patogénica de este descubrimiento (Muller *et al.*, 1990).

Liao *et al.*, en 2003 demostraron que proteínas citotóxicas y otras sustancias liberadas por las células tumorales durante la fase P, inducen la reducción de los linfocitos B de la población de linfocitos circulantes, mediante su apoptosis, luego de la inoculación de las células de TVT, favoreciendo la evasión de la vigilancia inmune a través del descenso de la producción de anticuerpos del hospedador (Liao *et al.*, 2003; De Lorimier y Fan, 2007).

Los perros que se infectan de forma natural pueden desarrollar una respuesta inmunológica antitumoral que produce la resolución espontánea de la enfermedad (Medeleau y Hnilica, 2007) y adquirir una inmunidad transferida por suero a implantaciones subsecuentes cuando ha tenido un TVT que ha degenerado (Trigo y Mateos, 1993; Mukaratirwa y Gruys, 2004). Esta inmunidad es producida por la formación de Ig G en el suero de perros después de un periodo (40 días) de crecimiento tumoral (Cohen, 1973). La regresión espontánea ha sido descrita en el trasplante experimental y algunos autores reportan que es poco común en casos de ocurrencia natural (Mello y Ferreira, 2004), por lo general ocurre dentro de los tres meses de la implantación del tumor, teniéndose como hipótesis que puede remitir espontáneamente antes de causar signos clínicos y ser detectados (Rogers, 1997). La regresión espontánea se considera remota si la edad del tumor es mayor de 6 meses. (Das y Das, 2000; De Lorimier y Fan, 2007).

La transferencia pasiva de suero post-regresión de perros portadores de TVT ha demostrado que puede inhibir y prevenir el desarrollo tumoral cuando se administra simultáneamente a un trasplante, enfatizando la importancia de la citotoxicidad celular dependiente de los anticuerpos. (De Lorimier y Fan, 2007)

Cachorros recién nacidos de hembras inmunes (al tumor) muestran un mayor periodo de latencia para el desarrollo del tumor y las neoplasias en estos son más pequeñas y muestran una regresión espontánea más rápida (Moulton, 1978).

La regresión del TVT también está asociada con la apoptosis de las células tumorales, un evento común en el TVT, debido principalmente a isquemia y liberación de citocinas (Factor de necrosis tumoral alfa) (Santos *et al.*, 2001), perforinas y granzimas. La apoptosis se manifiesta en tumores durante la fase P y R, pero es mayor en esta última, siendo dependiente en ambas fases del gen p53 y la inducción de esta probablemente se deba a la acción de las células inflamatorias en reacción al TVT, ya que el área de infiltrado inflamatorio es mayor en TVTs en fase R (Santos *et al.*, 2008<sub>a</sub>).

Estudios realizados durante la fase R inducida por el tratamiento con Vincristina, encontraron un aumento de las proporciones de linfocitos infiltrativos, relacionando este hecho con el estado de regresión y no con la edad o volumen de la masa tumoral (González *et al.*, 2000). Además se encontró un aumento de las células afectadas por el proceso apoptótico, siendo las células tumorales las predominantes, lo cual concuerda con la dramática y exitosa desaparición de la masa tumoral durante el tratamiento (Gonzales *et al.*, 2003).

Experimentalmente, inoculando células de TVT por vía subcutánea también se ha encontrado algún grado de infiltrado leucocitario y áreas necróticas rodeadas por las células tumorales con apariencia saludable (Medeleau y Hnilica, 2007).

## **2.6 Diagnóstico**

### **2.6.1. Diagnóstico Clínico**

Las características de esta neoplasia, su frecuente presentación genital, la historia clínica, los signos clínicos y el examen físico pueden proveer un diagnóstico presuntivo de TVT en los perros con la presentación clásica (Jhonson, 2000; Rivera y Nuñez, 2005, De Lorimier y Fan, 2007).

Estos animales llegan a consulta por la presencia de una masa de apariencia carnosa hiperémica, la cual inicialmente se presentan como un área elevada y a medida que crece adquieren forma de coliflor, pudiendo alcanzar un diámetro de 5 cm o más. Con frecuencia son bastante variables y sangran con facilidad (Jhonson, 2000). A pesar de la presencia del tumor la mayoría de animales se encuentran en buena condición corporal y con un peso adecuado, pudiendo presentar un adelgazamiento discreto (Amaral, 2005)

Otro signo clínico que produce una queja frecuente de los dueños es la presencia de un exudado intermitente o persistente de material serosanguinolento, piosanguinolento o

hemorrágico vaginal o prepucial (Amaral, 2005; Rivera y Nuñez, 2005), el cual se presenta por semanas o meses antes del diagnóstico (Figura 2 y 3). Esta descarga puede ser confundida con uretritis, cistitis, prostatitis en los machos o el celo en las hembras (Mello y Ferreira, 2004; Rivera y Nuñez, 2005). Además, estos animales parecen tener un mayor riesgo de desarrollar infecciones ascendentes del tracto urinario (De Lorimier y Fan, 2007).



**Figura 2.** TVT vulvar con presencia de secreción piosanguinolenta (flecha) (Elaboración propia)



**Figura 3.** TVT en el bulbo del pene con presencia de secreción sanguinolenta (flecha) (Elaboración propia).

En los machos la localización clásica suele ser la base del glande peneano, requiriendo la retracción caudal del prepucio para su identificación visual, pudiéndose localizar también en la mucosa prepucial y el glande. Las masas prepuciales pueden protruir de la cavidad prepucial y la fimosis puede ser una de las complicaciones de esta afección ( Jhonson, 2000; De Lorimier y Fan, 2007) (Figura 4). El compromiso de los linfonódulos inguinales es común, principalmente en machos con tumores extensos (Mello y Ferreira, 2004).



**Figura 4.** TVT en la base del pene (flecha), que no permite la retracción del prepucio (Elaboración propia)

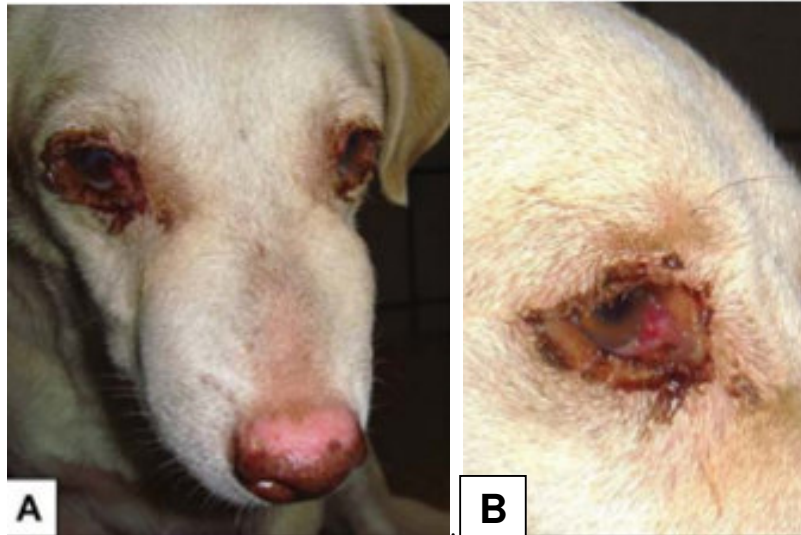
En las hembras, el tumor se suele localizar en la porción caudal de la vagina o en el vestíbulo (De Lorimier y Fan, 2007), pudiéndose exteriorizar a través de la abertura vulvar, dando lugar a deformaciones. Una de las principales complicaciones es la compresión del meato urinario y de la uretra en la hembra, dificultando la micción (Moulton, 1978; Mello y Ferreira, 2004).

El TVT se puede localizar de forma única o múltiple, pudiéndose localizar también en zonas extragenitales (Moulton, 1978; Amaral *et al.*, 2004). El diagnóstico clínico en estos casos generalmente es más difícil, porque puede haber una variedad de signos dependiendo de la localización anatómica de la neoplasia, para lo cual es esencial una cuidadosa exploración física de otras posibles localizaciones de afectación primaria y de los ganglios linfáticos regionales por posibles metástasis (Mello y Ferreira, 2004, De Lorimier y Fan, 2007).

En TVTs nasales se puede observar epistaxis, secreción nasal mucopurulenta, estornudos, disnea inspiratoria, estridor respiratorio, respiración con la boca abierta y ocasionalmente deformidad nasal (Mello y Ferreira, 2004, De Lorimier y Fan, 2007; Filgueira *et al.*, 2013) (Figuras 5 y 6A). El TVT ocular puede presentarse con epifora, descargas oculares sanguinolentas (Pigatto *et al.*, 2011) (Figura 6B), uveítis, hifema y glaucoma (Tardon, 2009). En otras ubicaciones puede haber halitosis, movilidad y pérdida de dientes, elevaciones en piel, deformación facial u oral, junto con el aumento de los linfonódulos regionales (Pires, 2008; Filgueira, 2010, 2013)



**Figura 5.** Secreción mucosanguinolenta (flecha) en un caso de TVT nasal (Elaboración propia).



**Figura 6.** TVT intranasal (A) con aumento del volumen facial en la región nasal dorsal (Filgueira *et al.*, 2013). TVT en tercer párpado (B), asociado a secreción periocular (Filgueira *et al.*, 2013).

Al realizar el diagnóstico diferencial del TVT genital en las hembras, se debe tener en cuenta al leiomioma y leiomiosarcoma, fibroma y fibroleiomioma, los cuales son de presentación genital y de relativa frecuencia en caninos, aunque estos se caracterizan por ser de aspecto nodular, consistencia firme (debido al estroma conectivo) y no tendientes al sangrado (Salamanca *et al.*, 2008), además se debe diferenciar de la hiperplasia y prolapso vaginal (Rivera y Nuñez, 2005). En los machos debe diferenciarse del carcinoma de células escamosas y de lesiones piogranulomatosas, ya que tienen apariencia macroscópica similar (Jhonson, 2000). Además, el TVT genital y extragenital debe ser diferenciado de otros tumores de células redondas, incluyendo linfomas, mastocitomas, plasmocitomas, histiocitomas y algunos melanomas, los cuales generalmente no son confundidos con TVT mediante una citología exfoliativa (Santos *et al.*, 2005; De Lorimier y Fan, 2007).

## **2.6.2. Diagnóstico Patológico**

### **2.6.2.1. Lesiones macroscópicas**

El TVT genital inicialmente aparece como nódulos localizados, pequeños y firmes, también pudiendo ser masas pedunculadas, papilares, multilobulares o con forma de coliflor.



Su tamaño puede oscilar entre pequeños nódulos de 5 mm de diámetro hasta grandes masas que pueden medir más de 15 cm. La neoplasia puede ser única o múltiple, de consistencia firme aunque friable, de color rojo carne, suele ser hemorrágicas y la parte superficial está comúnmente ulcerada e inflamada (Moulton, 1978; Muller *et al.*, 1990; Thomas, 2006; De Lorimier y Fan, 2007; Medleau y Hnilica, 2007).

En la hembra, el tumor se origina en la submucosa vaginal, generalmente en la pared dorsal y se desarrollan como proliferaciones papilares que penetran y atraviesan la luz de la vagina. (Moulton, 1978; Jubb *et al.*, 1991; Mello y Ferreira, 2004) (Figuras 7, 8 y 9). En el macho, el TVT se origina principalmente a partir del pene o dentro del prepucio, siendo frecuentemente pedunculada o de forma de coliflor (Jubb *et al.*, 1991; De Lorimier y Fan, 2007) (Figuras 10, 11A, 11B y 12)

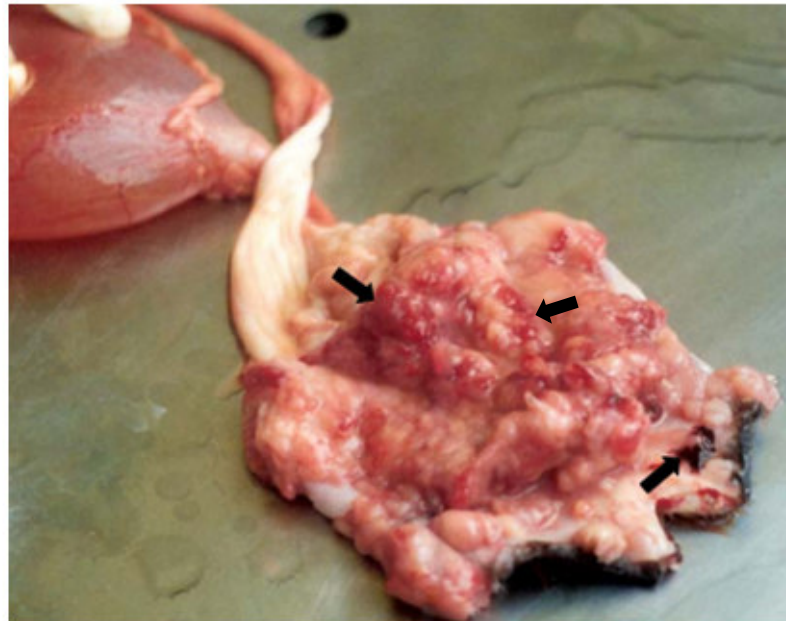


**Figura 7.** TVT genital de forma multinodular (flecha), protruyendo a través de abertura vulvar (Elaboración propia).





**Figura 8.** TVT genital con forma nodular (flecha) ubicada en el vestíbulo (Elaboración propia).



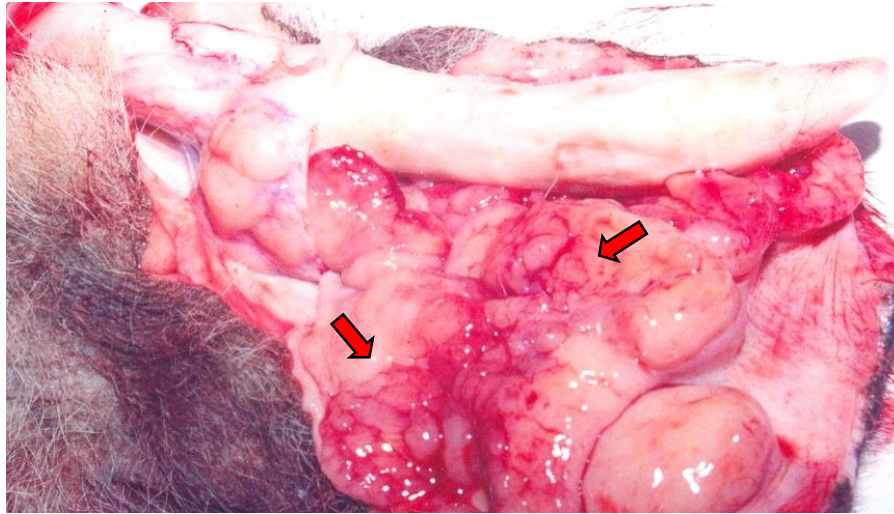
**Figura 9.** TVT en vulva y vagina. Obsérvese una masa multinodular, ulcerada con focos hemorrágicos (flechas) ocupando ambos órganos (Mendoza, 2006).



**Figura 10.** TVT en el glande. Se observa una masa de forma sésil con parte de la superficie ulcerada y necrosada (flecha) (Elaboración propia).



**Figura 11.** TVT con forma de coliflor (A) en la base del pene (flecha). TVT con forma multinodular (B) en el bulbo y glande del pene (flecha) (Elaboración propia).

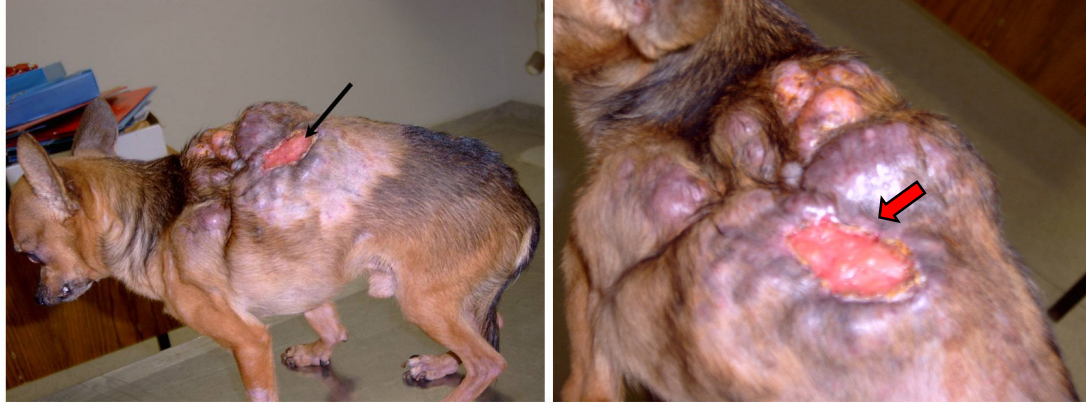


**Figura 12.** TVT ubicado en el prepucio, observándose como masas multinodulares, sangrantes (flechas) (Soares *et al.*, 2007).

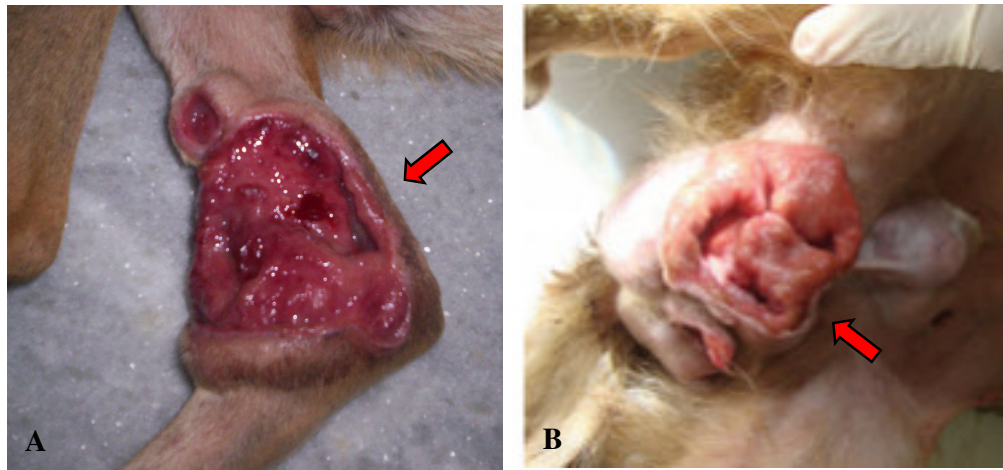
Los TVTs primarios extragenitales se pueden encontrar en mucosa nasal, oral, piel, recto (Amaral *et al.*, 2004; De Lorimier y Fan, 2007; Chikweto *et al.*, 2013), conjuntiva palpebral (Pigatto *et al.*, 2011) y ojo (Soares *et al.*, 2007), presentando características macroscópicas similares al TVT genital (Amaral *et al.*, 2012).

El TVT cutáneo se puede presentar en la cabeza, cuello, zona torácica, abdominal y en los miembros, como nodulaciones aisladas o múltiples, algunas ulceradas, bordes elevados e irregulares, firmes al tacto, también pueden tener forma de coliflor, pudiendo presentar olor pútrido debido a infecciones secundarias, muchas veces asociadas a exudado purulento, presencia de miasis (Pires, 2008; Santos *et al.*, 2008<sub>b</sub>) o asociados con tejido de granulación exuberante (Amaral, 2005; Lima *et al.*, 2013<sub>a</sub>) (Figuras 13, 14A y 14B).



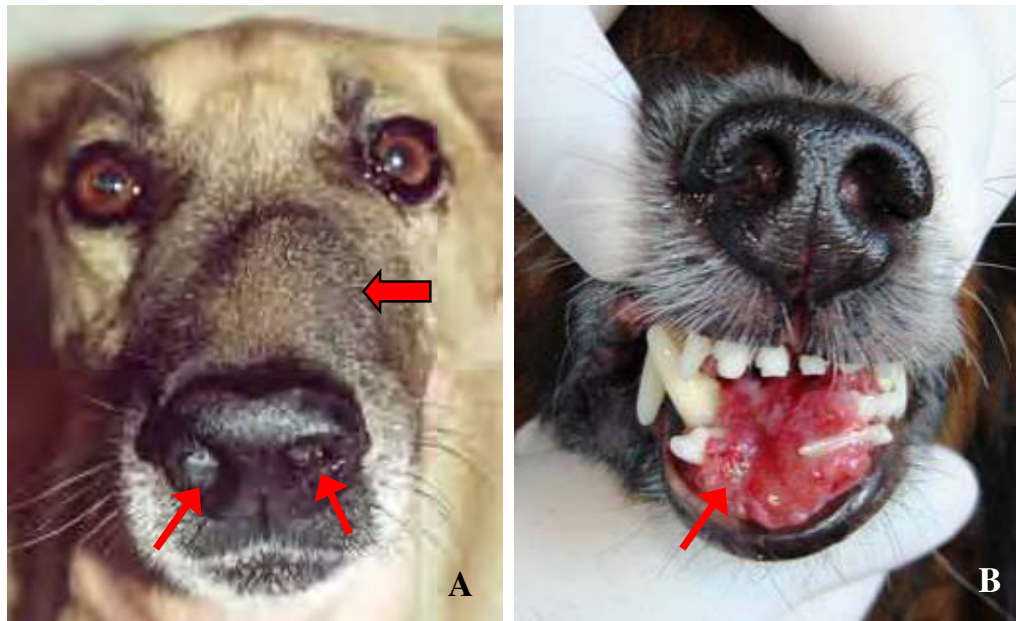


**Figuras 13.** TVT cutáneo, con múltiples nodulaciones y superficie ulcerada (flecha) (Chagas-Martinich *et al.*, 2009)

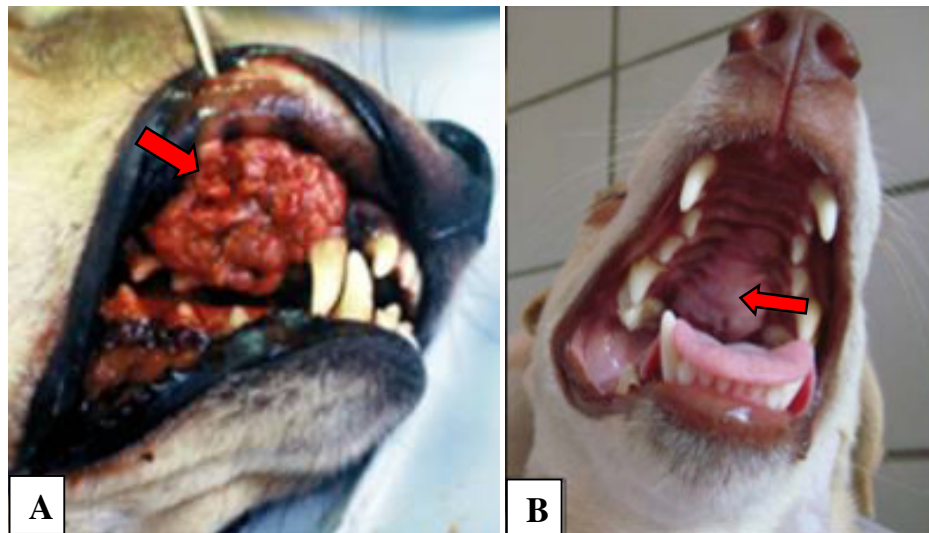


**Figura 14.** TVT cutáneo, ulcerado con bordes engrosados (A), (flecha) (Lima *et al.*, 2013<sub>b</sub>).  
TVT cutáneo con forma de coliflor (B) (flecha) (Fernandes *et al.*, 2013).

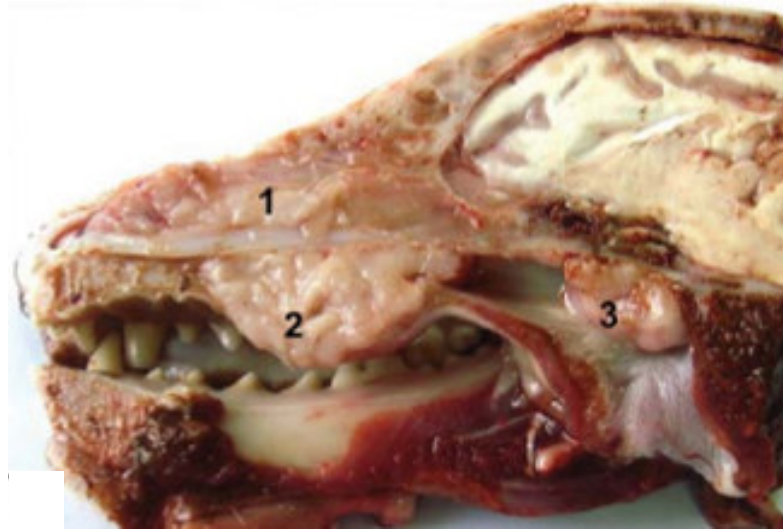
En los casos de TVT nasal se puede observar un aumento del volumen de la región nasal dorsal producto de la presencia del tumor, pudiendo haber fístulas entre la cavidad nasal y oral (Filgueira *et al.*, 2013), ser bilateral, progresar hacia el seno maxilar e invadir el paladar y cavidad oral y muchas veces puede estar asociado a pérdida dental (Amaral, 2005). El TVT en cavidad oral se puede presentar como neoformaciones exofíticas nodulares o multinodulares, en la mucosa subgingival y en el paladar duro (Filgueira, 2010, 2013; Mascarenhas *et al.*, 2014) (Figuras 15A, 15B, 16A, 16B y 17).



**Figura 15.** TVT nasal (A), con deformidad del rostro (flecha gruesa), secreción nasal purulenta y epistaxis (flechas delgadas) (Amaral, 2005). TVT en cavidad oral (B), localizado en la porción rostral de la mandíbula, observándose extensión del tumor, con pérdida de estructuras dentales (flecha) (Filgueira, 2010).



**Figura 16.** TVT en cavidad oral, multilobulado y ulcerado (A) (flecha) (Mascarenhas *et al.*, 2014). TVT en cavidad oral, ubicado en paladar duro (B) (Filgueira *et al.*, 2013).



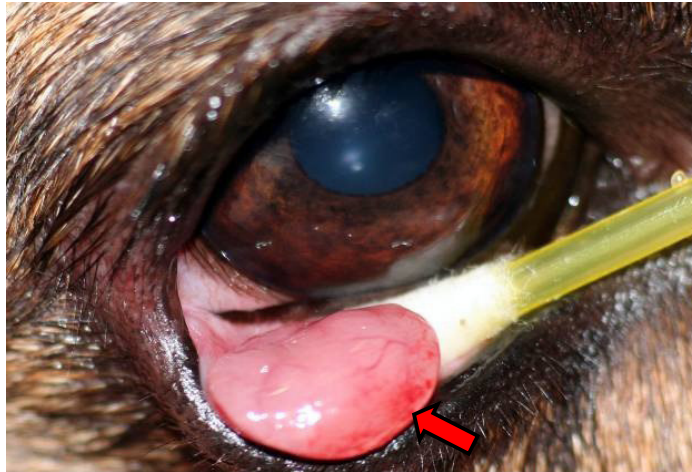
**Figura 17.** Corte sagital de región cefálica, observándose la presencia de TVT en cavidad nasal (1), oral (2) y faringe (3) (Filgueira *et al.*, 2013).

En los casos de TVT ocular se pueden observar masas friables, rojizas, sanguinolentas con forma de coliflor (Soares *et al.*, 2007), cuyo crecimiento se produce a partir de la conjuntiva, pudiendo cubrir todo el globo ocular (Amaral, 2005) (Figura 18). Amaral *et al.*, en 2012 reporta nódulos blancos, blandos, localizados en la esclerótica y la córnea, invadiendo la cámara anterior al corte longitudinal del globo ocular. También se pueden observar como masas intraoculares, Tardon *et al.*, en 2009, reporta una masa a nivel del iris despigmentada, lobulada, lisa y vascularizada ocupando gran parte de la cámara anterior. Además puede afectar estructuras accesorias del ojo, Filgueira *et al.*, en 2013 reportó lesiones exofíticas, friables y rojizas en el tercer párpado y Pigatto *et al.*, las reporta en la de la del párpado inferior (Pigatto *et al.*, 2011) (Figura 19). Cuando el TVT ocular se inicia por implantación, el crecimiento surge en las estructuras externas, mientras que en los casos de metástasis, surge en el tejido vascular, tales como el iris, el cuerpo ciliar o la coroides con el desarrollo de patrones intraoculares (Amaral *et al.*, 2012).





**Figura 18.** TVT intraocular. Masa rojiza, friable, en forma de coliflor, de 2.5 cm de diámetro en órbita ocular derecha (flecha) (Amaral *et al.*, 2012).

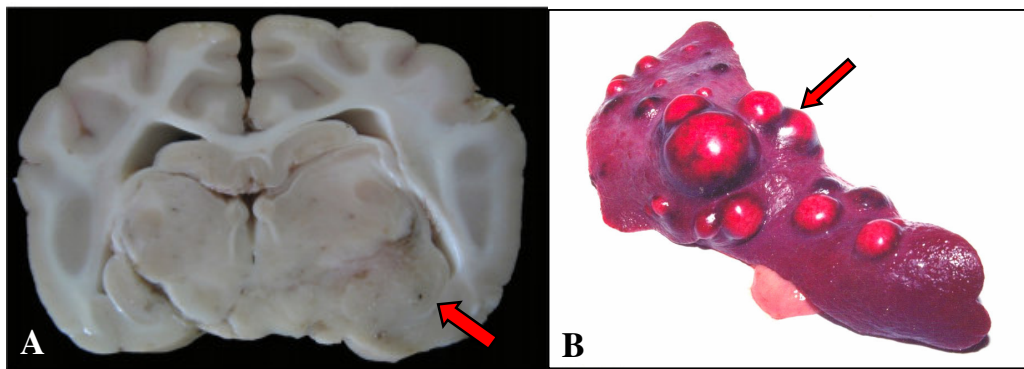


**Figura 19.** TVT ubicado en la conjuntiva palpebral (flecha) (Pigatto *et al.*, 2011).

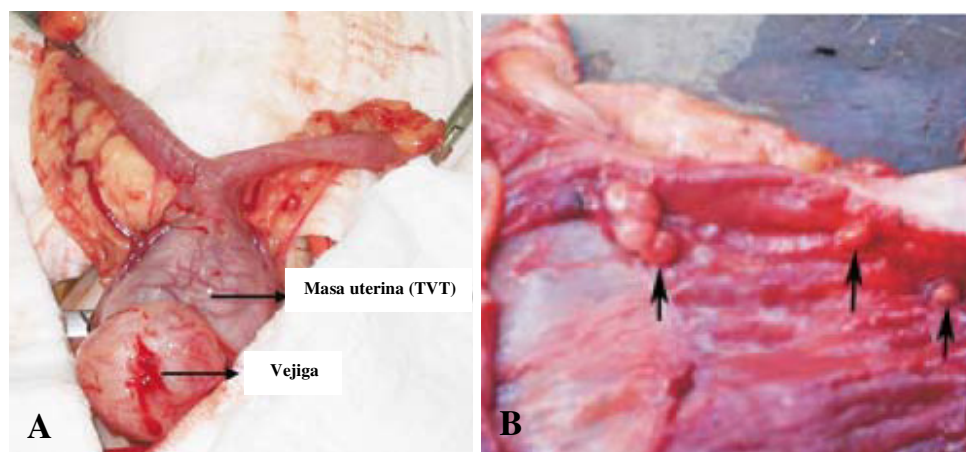
Las metástasis pueden encontrarse en costillas, bazo, hígado, ojos, hueso, cerebro, hipófisis, piel, tejido subcutáneo, linfonódulos submandibulares, cervicales y mesentéricos, peritoneo, testículos, ovarios y glándulas mamarias. (Medleau y Hnilica, 2007; Chikweto *et al.*, 2013).

Los linfonódulos afectados presentan linfadenopatía, afectándose principalmente los inguinales en los machos y los inguinales e iliacos internos en las hembras, esta distribución parece estar relacionada al drenaje linfático de los genitales externos, además de esto, en hembras ocurre una mayor presentación de metástasis en tejido mamario (Amaral, 2005).

Soares *et al.*, (2007) y Ramirez *et al.*, (2010) describen metástasis a bazo, el cual se presenta como múltiples nódulos redondeados con superficie lisa y coloración rojiza (Figura 20B). Fernandes *et al.*, en 2013 encontró características similares en las lesiones mestastásicas en pulmón y una masa mestastásica a cerebro ubicado en la región del tálamo, causando asimetría de los hemisferios por compresión en el mismo individuo (Figura 20A). Además, también puede realizar metástasis a útero, Mostachio *et al.*, (2007), lo describe como una masa de aproximadamente 10 cm de diámetro, de consistencia firme, irrigación moderada, y superficie externa lisa ubicado en el cuerpo uterino, presentando adherencia a vejiga y colon, mientras que Salamanca *et al.*, (2008), lo describe como como masas redondeadas/ovaladas (1x1 cm) en la pared uterina de aspecto blanquecino (Figuras 21A y 21B).



**Figura 20.** TVT metastásico a cerebro (A) (flecha) (Fernandes *et al.*, 2013). TVT metastásico a bazo (B) de forma multinodular (flecha) (Soares *et al.*, 2007).



**Figura 21.** TVT en cuerpo uterino (A) (Mostachio *et al.*, 2007). TVT de forma nodular (flechas) en útero (B) (Salamanca *et al.*, 2008).



### 2.6.2.2. Lesiones microscópicas

#### *Citología*

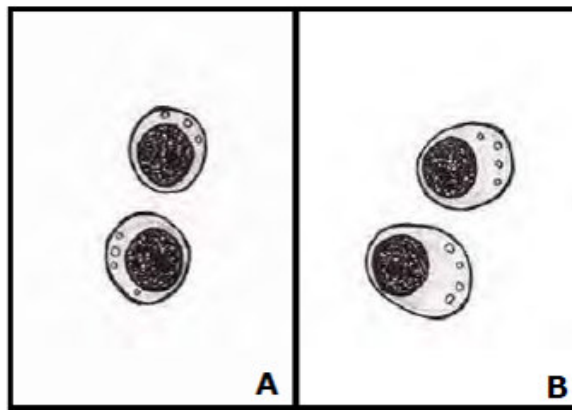
La citología es un examen complementario, simple, poco doloroso, mínimamente invasivo y de bajo costo para el diagnóstico de neoplasias (Ventura *et al.*, 2012). Las improntas, hisopados o los frotis del material aspirado poseen una buena celularidad y las células del TVT presentan características específicas (Zinkl, 2009). En masas localizadas extragenitalmente, en las que nos se incluye comúnmente el TVT como diagnóstico diferencial, la citología demostró ser eficiente y concluyente en el diagnóstico de esta neoplasia (Amaral, 2004).

Pueden ser observadas células grandes (diámetro de 15-30  $\mu\text{m}$ ) redondeadas u ovales, relación núcleo citoplasma ligeramente aumentado, por la presencia de un gran núcleo y una cantidad moderada de citoplasma, el cual varía, desde ligeramente hasta marcadamente basófila entre un tumor y otro, con pequeñas vacuolas citoplasmáticas claras, punteadas y definidas (1 a 2  $\mu\text{m}$ . de diámetro), las cuales juegan un papel importante en el diagnóstico, para distinguir el TVT de otros tumores de células redondas, como mastocitoma, linfosarcoma, y histiocitoma. El núcleo es de forma redondeada, situado excéntricamente, a veces binucleado, hipercromático, cariomegalia, cromatina densa, diferentes números de nucleólos y número moderado de figuras mitóticas (Jhonson, 2000; Santos *et al.*, 2001; Mello y Ferreira, 2004; De Lorimier y Fan, 2007). También se puede encontrar fondo hemorrágico e infiltración leucocitaria (González *et al.*, 2000). Las improntas realizadas de las superficies de tumores ulcerados pueden contener bacterias, neutrófilos y células epiteliales (Zinkl, 2009).

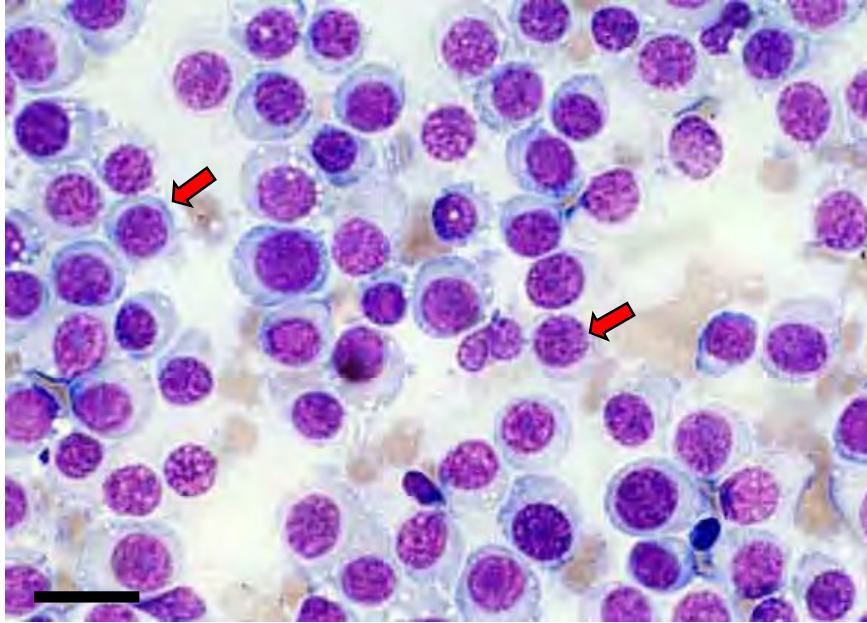
En las improntas de remisión tumoral, se encuentran muchas células tumorales con cambios degenerativos de leves a severos, de formas irregulares, tumefacción, núcleos vesiculosos con nucleólos prominentes y abundante citoplasma intensamente vacuolado (González *et al.*, 2000), además están presentes muchos linfocitos, juntos con algunos neutrófilos y macrófagos (Zinkl, 2009).

Hasta el 2003, la literatura sobre el TVT de ocurrencia natural y experimental, no registraba diferencias de tipos celulares, a pesar de que algunos investigadores reportaban formas bizarras, como células con ausencia de vacuolas, de morfología más ovoide, de mayor tamaño y con citoplasma más abundantes en casos de TVTs malignos (Gaspar *et al.*, 2009), Además, muchas veces, el aspecto de las células podía variar entre un tumor primario y metastásico o ser atípico en casos de tumores con mayor tiempo de evolución (Amaral *et al.*, 2004)

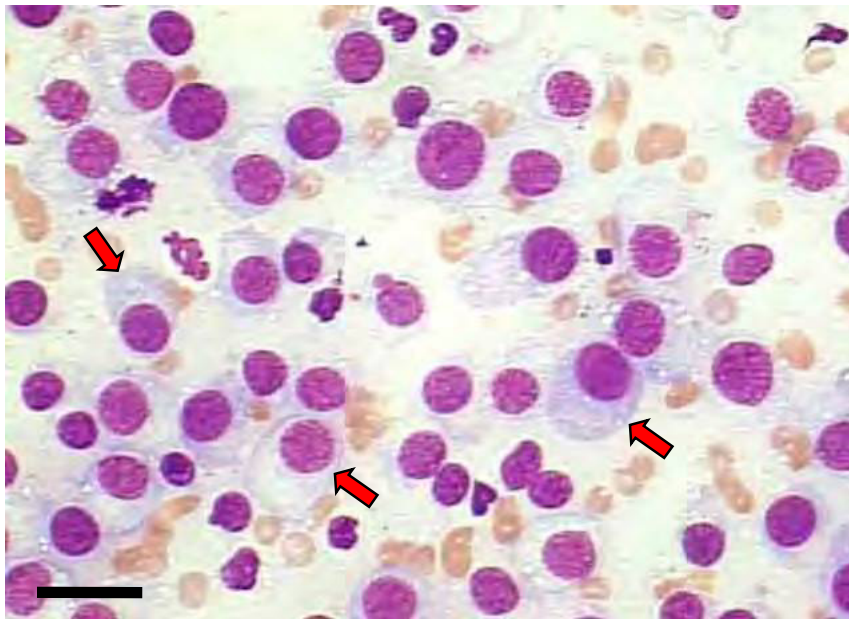
Investigaciones recientes, han modificado el criterio de clasificación del TVT, tanto de material citológico, como histopatológico, basándose en la hipótesis de la existencia de diferentes linajes de células de TVT, clasificándolo en tres categorías: TVT de patrón linfocitoide, cuando al menos un 60% de células tumorales son de forma redonda, con fino citoplasma granular, mayor relación núcleo: citoplasma y núcleo redondo y central, asemejándose a los linfocitos (Figuras 22 y 23); TVT de patrón plasmocitoide, cuando al menos el 60% del las células que conforman el parénquima tumoral son de forma ovoide, con citoplasma más abundante (menor relación núcleo citoplasma) y núcleo excéntrico, asemejándose a los plasmocitos (Figura 24) ; y TVT de patrón mixto o linfoplasmocitoide, cuando la celularidad es mixta entre tipos celulares plasmocíticos y linfocíticos, en los cuales ninguno sobrepasa el 59% del total (Amaral *et al.*, 2004; 2007) (Figura 25).



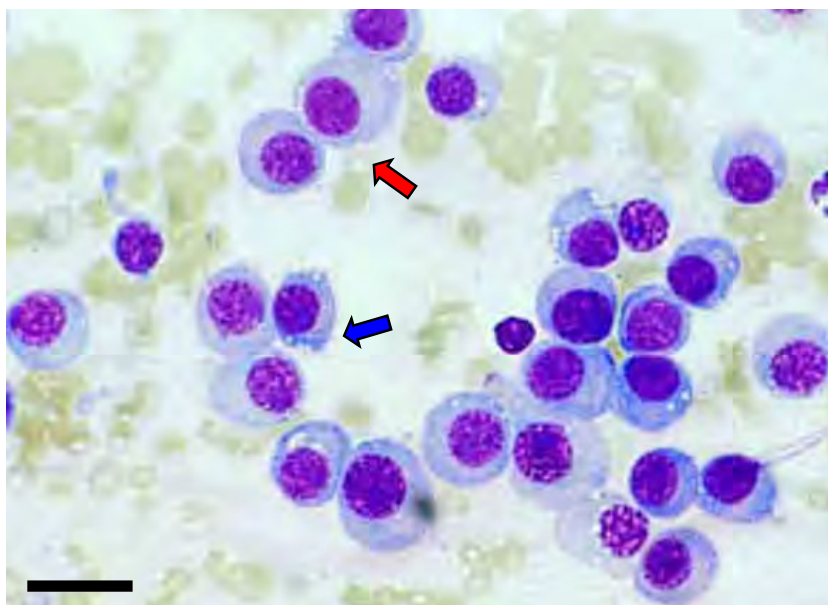
**Figura 22.** Esquema de dos tipos citomorfológicos del TVT: linfocitoide (A) y plasmocitoide (B). (Amaral, 2005).



**Figura 23.** Muestra citológica de TVT de patrón linfocitoide. Se observa predominio de células redondas de citoplasma escaso y alta relación núcleo: citoplasma. Giemsa (x100), barra = 20 $\mu$ m (Amaral, 2005).



**Figura 24.** Muestra citológica de TVT de patrón plasmocitoide. Se observa predominio de células ovales de citoplasma amplio y núcleo excéntrico. Giemsa (x100), barra = 20 $\mu$ m (Amaral, 2005).



**Figura 25.** Muestra citológica de TVT de patrón mixto. Se observa presencia de dos tipos morfológicos, sin predominio de ninguno (flecha roja: célula tipo plasmocitoide; flecha azul: célula tipo linfocitoide). Giemsa (x100), barra = 20µm. (Amaral, 2005)

Estudios realizados por Amaral (2004,2005) y Lima, *et al.* (2013<sub>b</sub>) encontraron como patrón citológico más frecuente al plasmocitoide, seguido por el mixto y por último el linfocitoide, demostrando que la ocurrencia del TVT plasmocitoide es elevada, con mayor presentación en masas no primarias y con capacidad de producir metástasis; mientras que el grupo linfocitoide fue el de mayor presentación en tumores de localización genital.

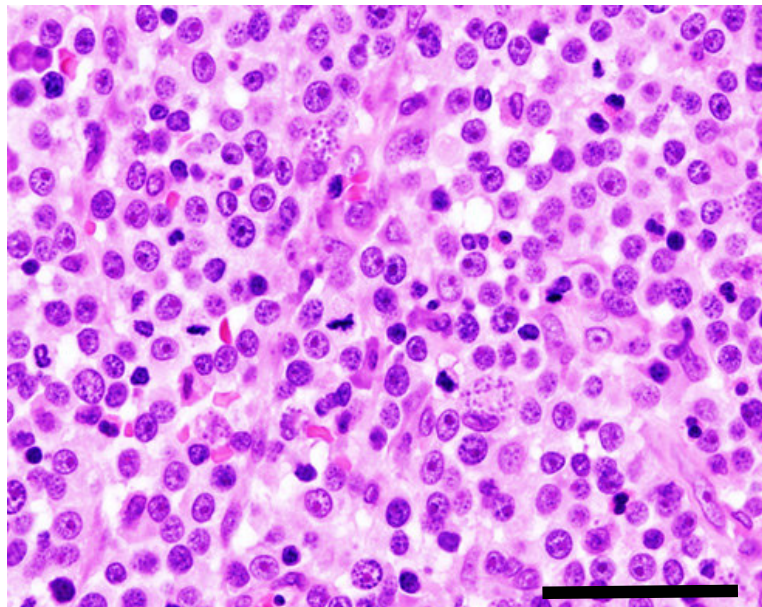
Algunos investigadores relacionan al tipo plasmocitoide con tumores pequeños y al tipo linfocitoide y mixto a tumores de mediano y gran tamaño (Lima, *et al.*, 2013<sub>b</sub>), mientras que otros investigadores reportan una mayor frecuencia del patrón linfocitoide en tumores medianos (3 – 5 cm) y una mayor frecuencia del patrón plasmocitoide en tumores de tamaño grande (más de 5 cm) y de tamaño pequeño (menos de 3 cm), siendo la diferencia encontrada entre los grupos pequeña y no significativa (Amaral, 2005). Además, se ha asociado al tipo plasmocitoide a tumores de mayor antigüedad (Bassani-Silva, 2005).

El tipo plasmocitoide exhibe un comportamiento más agresivo, que los otros tipos morfológicos, presentando mayor frecuencia de anormalidades nucleares, juntamente con una mayor expresión de glicoproteína- P, responsable de la resistencia tumoral, además cuando está asociado a ausencia de infiltrado inflamatorio linfocitario, se sugiere resistencia farmacológica

al protocolo convencional de tratamiento (Amaral *et al.*, 2004, 2005; Gaspar *et al.*, 2009; Lima, *et al.*, 2013<sub>b</sub>).

### ***Histopatología***

La histopatología se puede utilizar para confirmar el diagnóstico (De Lorimier y Fan, 2007), observándose células grandes y redondas, de origen mesenquimatoso, poliédricas o levemente ovaladas, que a menudo crecen en hileras dentro de un estroma vascular delicado, formando un tejido homogéneo, también pudiendo encontrarse fibras reticulares rodeando pequeños grupos de células tumorales en algunas áreas. Los núcleos son grandes en proporción al tamaño de la célula, con un gran número de nucléolos, los cuales presentan cromatina densa. El citoplasma es finamente granular y el contorno individual de las células puede ser indiferenciado. La variabilidad en el tamaño de las células es relativamente característica y las figuras de mitosis son numerosas. Frecuentemente son observados infiltrados de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Los tumores que sufren regresión espontánea muestran necrosis, aumento de la infiltración leucocitaria (especialmente linfocítica) y creciente número de haces de colágeno (Moulton, 1978; Muller *et al.*, 1990; Jubb *et al.*, 1991; Santos *et al.*, 2001; Mello y Ferreira, 2004).



**Figura 26.** Histopatología de TVT vaginal. Láminas compactas de células redondas neoplásicas separado por un estroma fibrovascular delicado. Se observan numerosas figuras mitóticas. HE. (40X) Bar, 50 mm. (Kegler *et al.*, 2012).

### ***Histoquímica***

La técnica histoquímica de coloración de las Regiones Organizadoras Nucleolares (NORs) utilizando la impregnación con nitrato de plata, por la cual se le denomina Regiones Organizadoras Nucleolares Argirofílicas (AgNORs) permite medir parámetros biológicos, como la tasa de proliferación celular y por lo tanto diferenciarlos de benignos y malignos (Bassani-Silva, 2005), ya que la velocidad de crecimiento de masa tumoral es uno de los factores más importantes que influencia el curso clínico del cáncer, un crecimiento más rápido sugiere una explicación de peor pronóstico en cánceres con altos valores de AgNOR, comparados con otros de bajos valores (Giraldo *et al.*, 2013). Esta técnica es un parámetro accesible, reproducible, económico y comparable que se puede utilizar en forma rutinaria de manera paralela a la técnica histopatológica (Rodríguez *et al.*, 2010).

Las NORs son secciones de cromosomas metafásicos, donde se localizan copias organizadas de genes RNA ribosomal, necesarias para la producción final de ribosomas (Giraldo *et al.*, 2003), a través de la coloración con la plata una serie de proteínas ácidas asociadas a las NORs y correlacionadas directamente con actividad transicional y proliferativa de las células, se hacen evidentes al microscopio óptico, como puntos oscuros, bien definidos, midiendo de 0.5 a 1  $\mu\text{m}$  de diámetro, en número y formas variables, primariamente en el nucléolo, y también como satélites en el núcleo (Figura 27), en muestras histológicas y citológicas; su evaluación se realiza mediante conteo, medida de su área y análisis de distribución en el núcleo (Santos *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2010).

La proliferación de AgNORs en las células de TVT canino es un indicador de la agresividad y transformación maligna; de esta forma, la evaluación de las alteraciones nucleolares que ocurren en las células neoplásicas del TVT pueden ser cuantificadas a través de la expresión de los AgNORs, como un indicador de la actividad metabólica proteica, evento que caracteriza a las células neoplásicas (Rodríguez, 2010)

Rodríguez *et al.*, (2010) reporta un 60.7% de AgNORs en el núcleo (60.7%) y, en menor grado, en el nucléolo o en ambas estructuras de las células del TVT, siendo el número medio de AgNORs por célula 1.53, encontrando una media de AgNORs en el núcleo de la célula de 0.91 y en el nucléolo de 0.62; el 1.53 de AgNORs por célula neoplásica del TVT canino podría ser considerado como de una malignidad de bajo grado, si se compara con resultados de estudios en otras neoplasias. Harmelin *et al.*, (1995) sugieren que el número de AgNORs se incrementa en animales con TVTs que presentan recidiva o metástasis muy agresiva, concordando con Basani-Silva (2005), quien reporta un mayor número de NORs por



núcleo en las células de TVT de patrón plasmocitoide, las cuales son consideradas de un carácter más agresivo.



**Figura 27.** Núcleo de células de TVT, observándose puntos de AgNOR dispersos en el núcleo (cabeza de flecha) y en el nucléolo (flecha). AgNOR, 1000x. (Bassani-Silva, 2005)

## 2.7 Tratamiento

Muchas modalidades terapéuticas han demostrado eficacia contra el TVT, entre las cuales se encuentran la cirugía, la radioterapia, la inmunoterapia y la quimioterapia (Rivera y Nuñez, 2005).

### 2.7.1. Cirugía

La cirugía es efectiva en tumores pequeños y localizados, no siendo aconsejable en tumores grandes y extendidos debido a la gran irrigación tumoral y al riesgo potencial de hemorragias graves que podría provocar la escisión (Rivera y Nuñez, 2005). Se puede utilizar como tratamiento de emergencia en casos de tumores invasivos que causan obstrucción uretral o con finalidad citoreductiva, previa a la terapia con fármacos antineoplásicos (Sousa *et al.*, 2000); también puede utilizarse en casos en que la reducción del volumen tumoral no se consigue con ninguno de los protocolos quimioterápicos descritos en la literatura (Hupples *et al.*, 2014). La recurrencia puede ser tan alta, como un 50 a 68% en casos de tumores grandes e invasivos, además la contaminación del sitio de cirugía con células de TVT, también actúa como una fuente de recurrencia (Benavides, *et al.*, 2012).

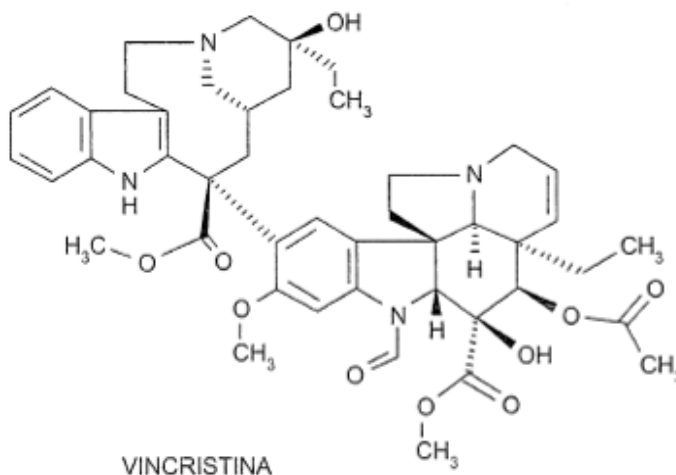
### **2.7.2. Radioterapia**

La radioterapia es efectiva como tratamiento primario, ya que el TVT es el tumor canino más radiosensible, pudiéndose utilizar el ortovoltage o la radiación con cobalto (Mello y Ferreira, 2004). Para su aplicación es conveniente que el animal este inmovilizado sobre la camilla o anestesiado. La dosis recomendada oscila entre 12 – 15 Gy divididos en 5 días o 40 a 45 Gy divididos en 3 semanas (Rivera y Nuñez, 2005).

### **2.7.3. Quimioterapia**

La combinación de vincristina, ciclofosfamida y metotrexato ha sido comunicada como un buen abordaje quimioterápico en el tratamiento del TVT (Rivera y Nuñez, 2005). Aunque el tratamiento mejor descrito y más efectivo sigue siendo la monoterapia con vincristina (De Lorimier y Fan, 2007), un alcaloide de la Vinca (Figura 28), que actúa uniéndose a la tubulina, microproteína tubular esencial de la célula, lo que provoca la disolución del haz mitótico con detención de la mitosis. Cuando se distribuye en los tejidos presentan una distribución estrecha, pero reversible (Kitchell, 2002); la cantidad que atraviesa la barrera hematoencefálica es mínima, no siendo efectivo en TVT con metástasis al sistema nervioso (Fernandes *et al.*, 2013). Su metabolismo es hepático y la vía principal de eliminación son las heces, a través de la excreción biliar (Prieto *et al.*, 1999), es relativamente segura, barata y proporciona una respuesta completa y duradera en el 90% de los perros tratados, la dosis recomendada es de 0.5 a 0.75 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal, administrada por vía intravenosa (IV) semanalmente, por lo regular durante 2 a 7 semanas o hasta realizar dos tratamientos después que el tumor haya desaparecido, debiendo realizarse evaluaciones citológicas en serie posteriores al final de la terapia para evaluar la eficacia del tratamiento (Jhonson, 2000; De Lorimier y Fan, 2007).





**Figura 28.** Estructura química de la Vincristina (Kitchell, 2002)

Como efectos adversos principales se han descrito anorexia, vómitos, mielosupresión en grado leve, parestesia (Rivera y Nuñez, 2005; Aguiar *et al.*, 2007) neuropatía periférica (debido a la administración prolongada, pudiendo mostrar signos de dolor generalizado y lamido o mordida de los dedos afectados) y reacción tisular perivascular grave, esta última debido a la extravasación accidental, lo que provoca una sensación aguda de quemazón y desprendimiento tisular del área afectada (Chun *et al.*, 2007). Said *et al.*, en 2009 evaluaron los efectos adversos de la vincristina en 15 perros con TVT, reportando disminución de la ingesta de alimento (33.3%), diarrea (13%), constipación (6.6%), claudicación (6.6%), alopecia difusa (33.3%), descamación (6.6%) e hipersensibilidad (6.6%), además se reportó trombocitopenia (80%), anemia normocítica normocrómica (60%), leucopenia (33.3%) con neutropenia y linfocitosis relativa, por lo cual se recomienda monitorear clínica y hematológicamente al animal para determinar el estado general del este, antes de la aplicación del fármaco, si el conteo total de plaquetas y leucocitos es menor a 3000/ $\mu$ l y/o 80000/ $\mu$ l respectivamente, se recomienda ampliar el rango entre tratamientos.

De la Torre *et al.*, en 2002 empleó la Vincristina por vía subcutánea (SC), a una dosis de 0.016 mg/kg a una dilución de 1 mg de Vincristina en 3 ml de Cloruro de Sodio al 0.9%, cada 7 días, hasta la remisión del tumor, el lugar de aplicación se estableció, dividiendo el tórax en cuadrantes, aplicando la droga en el cuadrante dorsocraneal (cerca a la cruz), notando una evolución favorable en cuanto a la regresión tumoral y la evidencia de inflamación en el sitio de aplicación, que perduró por el lapso de 2 a 3 semanas terminado el tratamiento.

Benavides *et al.*, en 2012, obtuvieron resultados similares, consiguiendo una remisión tumoral similar al tratamiento IV, con una reacción inflamatoria moderada en el sitio de aplicación, presentando niveles de prurito, de leve a intenso en el 71% de los pacientes, inflamación, tumefacción, fibrosis, enrojecimiento y exudado local debido al rascado, pero a pesar de esto, no se ocasionó necrosis de la piel y tejido subcutáneo, como sucede en los casos de extravasación del quimioterápico por vía IV, probablemente porque la laxitud del tejido subcutáneo costal es mayor a la que circunda la vena cefálica.

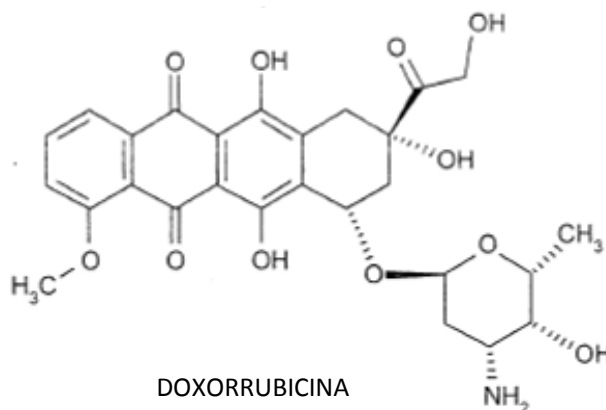
Puede producirse resistencia a la vincristina debido a la interrupción del tratamiento y la duración del desarrollo de la masa tumoral (Pansawut *et al.*, 2012). Además, su menor acumulación en las células tumorales, está relacionado a la glicoproteína-P, molécula normal de superficie, que se encuentra en diversos tejidos, cuya función es actuar como una bomba de extracción dependiente de energía, capaz de transferir al exterior una serie de drogas, como la vincristina y doxorubicina (Prieto *et al.*, 1999; Gaspar *et al.*, 2009), siendo uno de las principales causas de la multidroga resistencia (Da Silva *et al.*, 2014).

Los TVT de tipo plasmocitoide, poseen una mayor expresión de glicoproteína-P, teniendo un alto índice de respuesta parcial al tratamiento. Estudios realizados asociando el tiempo de regresión tumoral por el tratamiento con Vincristina y la morfología del TVT encontraron que las respuestas al tratamiento ocurren en diferentes plazos, el grupo linfocitoide y linfoplasmocitoide presentaron regresión total entre la cuarta y quinta semana de tratamiento, mientras que el grupo plasmocitoide demostró mayor agresividad, con regresión total de la masa neoplásica, después de la sexta semana de tratamiento, con algunos casos de persistencia de la masa después de finalizado el protocolo establecido (Silva, 2009).

Estudios recientes han empleado la combinación de vincristina a dosis de 0.5 mg/m<sup>2</sup> IV e Ivermectina al 1%, a dosis de 400 µg /kg, SC cada 7 días, demostrando un efecto sinérgico, ya que la Ivermectina es un potente inhibidor de la glicoproteína-P y consecuentemente inhibe la resistencia a múltiples drogas; obteniéndose con este protocolo remisión tumoral con un menor número de sesiones en comparación del tratamiento con vincristina sola; siendo esta una alternativa potencial para reducir la resistencia a la vincristina, reduciendo el costo del tratamiento y acelerando la recuperación (Sales, 2009).

La doxorubicina puede ser una alternativa empleada en casos de animales resistentes a la vincristina (Rivera y Nuñez, 2005; Thomas, 2006), utilizándose a dosis de 25 a 30 mg/m<sup>2</sup> IV cada 21 días durante 2 a 3 ciclos (De Lorimier y Fan, 2007). La doxorubicina es un antibiótico del grupo de las antraciclinas (Figura 29), cuya actividad antineoplásica consiste en intercalarse

entre los pares de bases del ADN, produciendo entrecruzamientos de cromátides, inhibiendo la síntesis de ARN y la duplicación del ADN (Prieto *et al.*, 1999). Los efectos adversos observados en los pacientes tratados son: malestar gastrointestinal (especialmente náuseas, vómitos y colitis), mielosupresión y alopecia, además puede provocar reacciones de hipersensibilidad y urticaria, que pueden depender de la velocidad de infusión, y evitarse con la administración previa de antihistamínicos y corticoides; su extravasación produce necrosis tisular grave y dosis acumulativas mayores a 180-240 mg/m<sup>2</sup> producen toxicidad cardíaca (Kitchell, 2002; Chun *et al.*, 2007).



**Figura 29.** Estructura química de la Doxorubicina (Kitchell, 2002)

Cizmeci *et al.*, (2012), evaluó la eficiencia de la Doxorubicina y el Cisplatino en el tratamiento de perras con TVT, observándose desaparición de la hemorragia luego de la primera aplicación de doxorubicina, consiguiéndose remisión tumoral completa luego de la quinta aplicación; sin presentación de efectos secundarios en los animales tratados. Además, se determinó que el Cisplatino, a pesar de ser utilizado para el tratamiento de otras neoplasias de órganos genitales, es inefectivo en el tratamiento del TVT, causando severa nefrotoxicidad. Huppes *et al.*, (2012) reporta remisión tumoral con la aplicación de 1 a 5 sesiones de doxorubicina, coincidiendo con Madhu *et al.*, (2012), quien obtuvo remisión tumoral completa después de la primera dosis en el 38.8% y 33.3% en un máximo de tres dosis, sin observarse problemas de recurrencia tumoral luego de 6 meses posteriores; no obstante en un 27.7 % de los animales tratados la masa remitió después de la segunda aplicación, recurriendo después de 2 a 3 meses.

Huppes *et al.*, (2012), sugiere como tratamiento alternativo el uso de Sulfato de Bleomicina, aplicado intratumoralmente a una dosis de 20 UI/cm<sup>3</sup>, cada 7 días, para casos resistentes al tratamiento con Vincristina y Doxorrubicina; dicho investigador la utilizó en una hembra que presentaba un TVT con remisión tumoral parcial luego de 8 sesiones de Vincristina y 2 sesiones de Doxorrubicina, obteniendo una remisión tumoral total, luego de dos aplicaciones de Bleomicina.

La poliquimioterapia para obtener la citoreducción tumoral, en casos de TVT resistentes a la Vincristina, se puede emplear, utilizando una combinación de ciclosfosfamida, un citostático que actúa sobre los ácidos nucleicos interfiriendo en su estructura y función; y 5-fluoracil, un antimetabolito que bloquea la síntesis de DNA, ambas drogas a una dosis de 50 mg/m<sup>2</sup>, una vez por semana, repitiéndose cada 14 días (Vițălaru *et al.*, 2012). También está indicado el uso de ciclosfosfamida a 5 mg/kg PO, como única droga o asociada a prednisolona 3 mg/kg día, vinblastina 0.15 mg/kg semanalmente IV durante 4 a 6 semanas y metotrexato 0.1 mg/kg día por medio o una combinación de las tres drogas (De la Sota *et al.*, 2004).

Pansawut *et al.*, (2012) emplearon la combinación de Vincristina y L-asparginasa, en casos de TVTs resistentes a la monoterapia con Vincristina. La L-asparginasa es una enzima derivada de bacterias, que degrada el aminoácido aspargina, privando a las células en crecimiento de dicho aminoácido, inhibiendo así la síntesis de ADN y ARN con la consiguiente interrupción de la proliferación celular, actuando durante la fase G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> del ciclo celular (Cartagena *et al.*, 2009). El protocolo recomendado fue la combinación de Vincristina a dosis de 0.025 mg/kg IV y L-asparginasa a dosis de 10000 UI/m<sup>2</sup> de superficie corporal IV, previa administración de 4 mg de clorfenamina IM para evitar posibles reacciones alérgicas causada por esta última, el tratamiento se recomendó cada dos semanas para disminuir efectos secundarios, como diarrea, pérdida del apetito y leucopenia, los cuales ocurrieron en protocolos realizados semanalmente a la misma dosis o con dosis más altas de vincristina (0.025 mg/kg) (Pansawut *et al.*, 2012). Da Silva *et al.*, (2014), empleó L-asparginasa (400 mg/kg, SC) y prednisona oral (2 mg/kg una vez al día por semana), reduciendo la dosis de la prednisona semanalmente a 1.5, 1 y 0.5 mg/kg, como tratamiento posterior a la cirugía de TVT vaginal resistente a la vincristina y doxorrubicina, sin presencia de recidivas.

#### **2.7.4. Inmunoterapia**

El empleo de la inmunoterapia local ha dado resultados muy diversos. Se utilizan para el tratamiento aplicaciones intratumorales con el Bacilo Calmette-Guérin (BCG) 1-4X107

cuerpos bacterianos, con un intervalo de 7 días, durante 3 semanas (Mello y Ferreira, 2004; Rivera y Nuñez, 2005). Mukaratirwa *et al.*, en 2009, demostraron que el tratamiento con 5ml de BCG, aplicado intratumoralmente durante 5 días consecutivos, estimula el sistema inmune del hospedador, incrementando el número de macrófagos y TILs, induciendo apoptosis y necrosis de las células tumorales obteniendo remisión tumoral en un promedio de 44 días. Además demostraron que la inmunoquimioterapia (BCG + Vincristina) es más efectiva, ya que la Vincristina produce apoptosis y disminución de las mitosis de las células tumorales, pero provoca una disminución del número de TILs, efecto que se contrarresta con la aplicación de BCG, obteniéndose remisión tumoral en un menor tiempo (32 días en promedio).

La autohemoterapia consiste en la colección de sangre por punción venosa, para su posterior administración por vía intramuscular (IM) en el mismo animal, esta terapia probablemente incrementa la inmunidad y consecuentemente contribuye al incremento de la resistencia corporal contra el TVT, produciendo regresión tumoral de la masa (Drumond *et al.*, 2013). De Sousa *et al.*, (2009) sugieren que la reducción tumoral puede deberse a la acción de los macrófagos sobre las células tumorales del TVT, ya que el sistema mononuclear fagocitario es activado por la sangre autóloga, ya que esta actúa como una proteína extraña, por haberse alterado físico químicamente al entrar en contacto con la jeringa, además de ser sangre con pequeña concentración de oxígeno por ser venosa.

Drumond *et al.*, en 2013 utilizó la autohemoterapia, empleando 10 ml de sangre entera, aplicándola en el glúteo por vía intramuscular, 1 vez por semana, durante 7 semanas, observando disminución del tamaño de la masa tumoral después de la quinta y sexta semana de tratamiento en el 50% de los perros tratados, sugiriendo que la prolongación del tratamiento por más de 7 semanas, hubiese podido conseguir una remisión total de la masa tumoral.

De Sousa en 2009, empleó la quimioinmunoterapia, utilizando Vincristina a una dosis de 0.05 mg/Kg IV) y la autohemoterapia, aplicando 5 ml de sangre autóloga vía IM, cada 7 días, durante 8 semanas, las primeras 5 aplicaciones fueron hechas antes de la aplicación del quimioterápico y las tres últimas durante la quimioterapia, observándose reducción considerable del tamaño del tumor durante la tercera aplicación, ocurriendo desaparición de la secreción sanguinolenta y obteniéndose la remisión total con el sulfato de Vincristina.

También se ha utilizado la quimioinmunoterapia con vincristina y extracto de pared celular de *Mycobacterium phlei*, por vía endovenosa, este es un agente no patógeno que induce la activación de monocitos y macrófagos (D'Armico *et al.*, 2001). La quimioinmunoterapia se

emplea con el fin de disminuir el número de dosis del quimioterápico y a su vez disminuir el tiempo de ocurrencia de la remisión tumoral (De Sousa, 2009).

También se han empleado vacunas autógenas formalinizadas y extractos de tumor irradiados para iniciar la regresión tumoral, aunque los resultados obtenidos son inconstantes y poco comparables con los logros de los otros tratamientos alternativos, teniendo un alto índice de recidiva (Mello y Ferreira, 2004; Rivera y Nuñez, 2005).

## **2.8 Pronóstico**

Dado que un número de perros inmunocompetentes puede sufrir una regresión espontánea y que una gran mayoría de perros tratados con un agente único (vincristina), responden adecuadamente al tratamiento, sobretudo en casos tempranos, obteniendo remisiones clínicas completas y duraderas, el pronóstico del TVT canino es generalmente considerado muy bueno (De Lorimier y Fan, 2007). Por otro lado el pronóstico es malo en los casos con evolución a largo plazo, debido a las respuestas variables a los tratamientos realizados (Silva, 2009) o cuando las lesiones se localizan en órganos extragenitales como el cerebro, ojo, pulmón y corazón, ya que estas reducen la calidad de vida y pueden comprometer la función de los órganos vitales (Soares et al., 2007).

Además, debe considerarse la morfología celular para el pronóstico, ya que los TVT de patrón linfocitoide y mixto responden mejor al tratamiento, teniendo un mejor pronóstico que los TVT de patrón plasmocitoide, los cuales son más agresivos y presentan un alto índice de repuesta parcial al tratamiento (Da Silva, 2009).

### **III. CONCLUSIONES**

- No se conoce la etiología exacta del TVT, considerándose actualmente un trasplante celular alogénico, de origen celular desconocido.
- Tiene distribución mundial, presentándose con mayor frecuencia en zonas de clima tropical, en animales sin raza definida, sexualmente activos y sin predisposición sexual manifiesta.
- Se transmite principalmente por contacto sexual, pero también se puede transmitir por conductas sociales como el olfateo, lamido o contacto directo con el tumor.
- El sistema inmune juega un rol muy importante para el desarrollo de la enfermedad, generando una respuesta inmune humoral y celular.
- La presentación genital es la más frecuente, aunque puede desarrollarse en lugares extragenitales, de forma primaria o secundaria a un TVT genital. Las metástasis son raras y su incidencia varía de 0 a 17%.
- Las presentaciones extragenitales más frecuentes son el TVT nasal y cutáneo, por lo que es importante considerar estas últimas en el diagnóstico diferencial de epistaxis u otra secreción nasal, así como en los casos de tumores cutáneos.
- Los signos clínicos por los cuales el animal es llevado a consulta, son la evidencia de descarga prepucial o vulvar serosanguinolenta y por la presencia de una masa de apariencia carnososa hiperémica.

- El diagnóstico se basa en la anamnesis, los signos clínicos y la citología o histopatología.
- El TVT en los diagnóstico citológico e histopatológico se clasifica en tres patrones: linfocítico, plasmocítico y mixto, siendo el plasmocítico el más agresivo y con menor respuesta al tratamiento.
- Es importante, tanto para el diagnóstico como el pronóstico, considerar los patrones morfológicos celulares del TVT; de esta manera se podrá implementar protocolos terapéuticos más eficientes y eficaces en los casos que puedan presentarse.
- El método más empleado para el tratamiento es la quimioterapia con Vincristina, con un 90% de eficiencia.
- La Doxorubicina es la alternativa más utilizada en casos de TVTs resistentes a la vincristina. Aunque actualmente existen diversos protocolos quimioterápicos e inmunoterápicos alternativos.



#### **IV. BIBLIOGRAFÍA CITADA**

1. **Afonso E, Moraes D, Paula T, Malucelli L, Honsho D, Paura D, Ferreira W, Castro M.** 2004. Metástase de tumor venéreo transmissível (TVT). *Braz J vet Res anim Sci.* 41(Supl): 109-110.
2. **Albanense F, Poli A, Millanta F, Abramo F.** 2002. Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with Leishmania-laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin?. *Vet Dermatol.* 13(5):243-246.
3. **Alvarez F.** 2001. Citología práctica en el diagnóstico del cáncer. *Memorias Curso de oncología en pequeñas especies.* p 43-52.
4. **Amaral A, Gaspar L, Silva S, Rocha N.** 2004. Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). *Rev Port Cienc Vet.* 99:167-171.
5. **Amaral A.** 2005. Tumor venéreo transmissível canino: Critérios citológicos de malignidade e caracterização citomorfológica correlacionada a imunocitoquímica e lesões de DNA. Tesis de Doctor en Medicina Veterinaria. Botucatu: Univ. Estatal Paulista Julio de Mesquita Filho. 203p.
6. **Amaral A, Bassani-Silva S, Ferreira I, Fonseca L, De Andrade F, Gaspar L, Rocha N.** 2007. Cytomorphological characterization of transmissible canine venereal tumor. *Rev Port Cienc Vet.* 103(1):87-94.
7. **Amaral A, Oliveira R, Silva A, Leão M, Ferreira F.** 2012. Tumor venéreo transmissível intra-ocular em cão – Relato de caso. *Vet. e Zootec.* 19(1):79-85.

8. **Bassani-Silva S.** 2005. Efeito da própolis sobre a agressividade do tumor venéreo transmissível canino: ensaios in vitro. Tesis de Magister en Medicina Veterinaria. Botucatu: Univ. Estatal Paulista. 112 p.
9. **Benavides C, Delgado L, Mideros C.** 2012. Valoración de la involución neoplásicas del tumor venéreo transmisible, aplicando vincristina por vía subcutánea e intravenosa. *Rev. Inv. Pec.* 1(2):74-83.
10. **Brandão C, Borges A, Ranzani J, Rahal S, Teixeira C, Rocha N.** 2002. Tumor venéreo transmissível: estudo retrospectivo de 127 casos (1998 - 2000). *Rev. Educ. contin. CRMV-SP.* 5(1):25-31.
11. **Calvet C, Leifer C, Mcewrn E.** 1982. Vincristine for the treatment of transmissible venereal tumor in dog. *J Am Vet Med Assoc.* 181(2):163-164.
12. **Cartagena J, Belloti D, Borrego J, Chacón F, Domingo V, Hervás J, Engel J, Moya S, Vicente A, Luisa F.** 2009. Quimioterapia Práctica. *Canis et felis.* 96(1):92-114.
13. **Castro J.** 1985. Frecuencia de presentación de neoplasias en caninos. Periodo 1978-1983. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 46 p.
14. **Chagas-Martinich L, Freitas A, Carvalho C.** 2009. Inhibition of the anticancer effect of vincristine sulphate on a canine transmissible venereal tumour (TVTc) by nutritional supplementation: A case report. *J Bras Ci Anim.* 2(4):199-207
15. **Chikweto A, Kumthekar S, Larkin H, Deallie C, Tiwari K, Sharma R, Bhaiyar M.** 2013. Genital and Extragenital Canine Transmissible Venereal tumor in dogs in Grenada, West Indies. *Open J Vet Med.* 3:111-114.
16. **Cizmeci S, Kose A, Aydin I, Dinc D, Maden M, Kose S.** 2012. Clinical efficiency of Doxorubicin and Cisplatin in treatment of transmissible venereal tumor of bitches. *Revue Méd.Vét.* 163(11):516-521.
17. **Cohen D.** 1973. The biological behavior of the transmissible venereal tumor in immunosuppressed dogs. *Eur J Cancer.* 9(4):253-258.
18. **Chun R, Garret L, Vail D.** 2007. Modalidades terapéuticas para el paciente con cáncer. Quimioterapia del cáncer. En: Withrow S, Vail D. *Oncología clínica de pequeños animales.* 4ta ed. España: Multimédica ediciones. p 781-784.

19. **D'Armico G, Adagio L, Lattanzi D, Alvarez A.** 2001. Tumor venéreo transmisible: Importancia del tratamiento quimioinmunoterápico. *Anu Fac Cienc Vet (La Pampa)*. 3:34-39.
20. **Da Silva D, Reusing M, Franciosi A, Belo C, Goncalves K, De Sousa R, Guérios S.** 2014. Treatment of canine transmissible venereal tumor using L-asparaginase, prednisone, and surgery in a clinical chemotherapy-resistant case. *Turk J Vet Anim Sci*. 38:320-323.
21. **Da Silva N.** 2009. Tumor venéreo transmissível em cães atendidos nos anos de 2007 e 2008 no hospital veterinário da Universidade Federal Rural da Amazônia. Trabajo para obtener el título de especialista de pequeños animales. Univ. Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) Belém. 37 p.
22. **Das U, Das A.** 2000. Review of Canine Transmissible Venereal Sarcoma. *Vet Res Commun*. 24(8):545-556.
23. **De la Sota P, D'Amico G, Adagio L, Noia M, Gobello C.** 2004. Tumor venéreo transmisible en el perro. *Ci Vet* 6(1):42-49.
24. **De la Torre S, Lombino M, Romero E.** 2002. Terapia alternativa para el tratamiento del tumor venéreo transmisible o tumor de Sticker. [Internet], [26 agosto 2014] Disponible en: [http://www.drdelatorre.com.ar/trabajos/tumor\\_de\\_sticker.pdf](http://www.drdelatorre.com.ar/trabajos/tumor_de_sticker.pdf)
25. **De Lorimier L, Fan T.** 2007. Tumor Venéreo Transmisible canino. En: Withrow S, Vail D. *Oncología clínica de pequeños animales*. 4ta ed. España: Multimédica ediciones. p 781-784.
26. **De Sousa F.** 2009. Auto-hemoterapia como terapia auxiliar no tumor venéreo transmissível. Trabajo para obtener el título de especialista de pequeños animales. Univ. Castelo Branco. Sao Paulo. 20 p.
27. **De Vivero L, Chavera A, Perales R, Fernández V.** 2013. Frecuencia de neoplasias caninas en Lima: Estudio retrospectivo en el periodo 1995-2006. *Rev Inv Vet Perú*. 24(2):182-188.
28. **Dextre R.** 2011. Frecuencia de neoplasias del tracto reproductor masculino del perro (*Canis familiaris*), casuística del Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria - Facultad de Medicina Veterinaria - Universidad Nacional Mayor de San Marcos (período 2007-2010). Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos 54 p.
29. **Díaz L.** 1991. Procesos neoplásicos en caninos. Análisis estadístico. Periodo 1984 - 1989. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 28 p.

30. **Díaz M.** 1993. Neoplasias del tracto genital del perro. Estudio estadístico. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 34 p.
31. **Doliger S.** 2005. Vademecun de Cancérologie veterinaire. Editions Med Com. p 234.
32. **Drumond K, Quessada A, Silva S, Costa F, Silva L, Pinho A, Lopes R.** 2013. Transmissible venereal tumor treated with autohemotherapy. *Acta Sci Vet.* 41(1):1107
33. **Fernandes C, Gaspar L, Meinerz A, Grecco F, Nobre M, Cleff M.** 2013. Tumor venéreo transmissível canino com metástase encefálica. *Semina: Ciências Agrárias.* 34(6Supl2):3929-3934.
34. **Filgueira K.** 2010. Tumor venéreo transmissível canino com localização primária e única em cavidade oral. *Acta Sci Vet.* 38(1):91-94.
35. **Filgueira K, Peixoto G, Fonseca Z, Paiva A.** 2013. Tumor venéreo transmissível canino com múltiplas localizações extragenitais. *Acta Sci Vet.* 41(1):1-6.
36. **Gaspar L, Amaral A, Bassani-Silva S, Rocha N.** 2009. Imunorreatividade à glicoproteína-p nos diferentes tipos citomorfológicos de tumor venéreo transmissível canino. *Vet. Foco.* 6(2): 140-146.
37. **Giraldo G, Aranzazu D, Rodríguez B, Pérez M, Ramírez M.** 2003. Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares coloreadas con plata (AgNORs) en tumores cutáneos caninos. *Rev Col Cienc Pec* 16(2):132-138.
38. **Gonzáles C, Flores E, Cattaneo G, Cepeda R, Lombardi C.** 2000. Respuesta leucocitaria local en tumor venéreo transmisible del canino en fase progresiva y en regresión inducida con Vincristina. *Avance Ci Vet.* 15(1):45-53.
39. **Gonzales C, Cepeda R, Flores E, Cattaneo G, Reyes S.** 2003. Apoptosis en tumor venéreo transmisible del canino en fase de crecimiento progresivo y durante regresión inducida por Vincristina. *Avances Ci Vet* 18 (1,2):54-62.
40. **Grandez R, De Priego C, Yi P, Torres L.** 2011. Tumor venéreo transmisible canino: estudio retrospectivo de 11 casos. *Rev Inv Vet Perú* 22 (4):342-350
41. **Harmelin A, Zuckerman A, Nyska A.** 1995. Correlation of AgNOR protein measurements with prognosis in canine transmissible venereal tumor. *J Comp Path* 112:429-433.

42. **Hsiao Y, Liao K, Hung S, Chu R.** 2004. Tumor-Infiltrating Lymphocyte Secretion of IL-6 Antagonizes Tumor-Derived TGF-  $\beta$ 1 and Restores the Lymphokine-Activated Killing Activity. *J Immunol* 172:1508-1514.
43. **Hsiao Y, Liao K, Chung T, Liu T, Liu C, Hsu C, Chu R.** 2008. Interactions of host IL-6 and IFN- $\gamma$  and cancer-derived TGF- $\beta$ 1 on MHC molecule expression during tumor spontaneous regression. *Cancer Immunol Immun.* 57(7):1091-1104.
44. **Huppes R, Silva C, Uscategui R, Nardi A, Souza F, Tinucci-Costa M, Amorim R, Pazzini J, Faria J.** 2014. Tumor venéreo transmissível (TVT): Estudo retrospectivo de 144 casos. *Ars Vet.* 30(1):13-18.
45. **Huppes, R., Pazzini, J, Nardi, A, Castro, J, Faria, J, Tinucci-Costa, M, Amorim, R.** 2014. Replacement of chemotherapy protocols in six dogs chemoresistant to vincristine sulfate in the treatment of transmissible venereal tumour (TVT). *Eur J Vet Med*, Article-ID. 2014(2):1-8.
46. **Johnson C.** 2000. Enfermedades reproductivas. En: Nelson R, Couto C. *Medicina interna de Pequeños Animales*. 2° ed. Argentina: Intermédica. p 891-1002.
47. **Jubb K, Kennedy P, Palmer N.** 1991. *Patología de los animales domésticos*. Tomo 3. 3ra ed. Uruguay: Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur. p 570.
48. **Kegler K, Habierski A, Hahn K, Amarilla S, Seehusen F, Baungarter W.** 2012. Vaginal Canine Transmissible Venereal Tumour Associated with Intra-tumoural *Leishmania spp.* Amastigotes in an Asymptomatic Female Dog. *J Comp Pathol.* 149(2-3):156-161.
49. **Kitchell B.** 2002. Farmacología de la terapia del cáncer. En: Botana L, Landoni F, Jiménez T. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. España: MC Graw – Hill / Interamericana. p 586-609.
50. **Liao K, Hung S, Hsiao Y, Bennett M, Chu R.** 2003. Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 92 (3-4):149-162.
51. **Lima C, Rabelo R, Vulcani V, Furtado A, Helrigel P, Brito L, Moura V.** 2013. Morphological patterns and malignancy criteria of transmissible venereal tumor in cytopathological and histopathological exams. *Braz. J. Res. Anim. Sci.* 50(3):238-246.
52. **Lima T, Marinho P, Lira R, Jark P, Melo J, Oliveira L.** 2013. Apresentação atípica de tumor venéreo transmissível cutânea em um cão. *Vet e Zootec.* 20(1):57-61.

53. **Madhu S, Sanjay S, Apra S.** 2012. Effect of Doxorubicin on canine transmissible venereal tumor. *Int J Pharm Bio Sci.* 3(3): 97-104.
54. **Mascarenhas M, Peixoto P, Ramadinha R, Yamasaki E, Costa S, Driemeier D, Sonne L, Franca T.** 2014. Immunohistochemical study of genital and extragenital forms of canine transmissible venereal tumor in Brazil. *Pesq Vet Bras.* 34(3): 250 – 254.
55. **Mateus Y, Fernandes G, Dantas K, Cisneiros P, Dos Reis R.** 2013. Transmissible Extragenital Venereal Tumor in Impuberal Canine. *Braz J Vet Pathol.* 6(3):123-127.
56. **Mc Gavin M, Zachary J.** 2007. Pathologic basis of veterinary diseases. 4<sup>th</sup> ed. USA: El Sevier. 1476 p.
57. **Mello M, Ferreira F.** 2004. Tumor Venéreo Transmisible. En: Gobello C. Temas de reproducción de caninos y felinos por autores latinoamericanos. Argentina: Intervet. p 65-70.
58. **Mendoza N.** 2006. Frecuencia del tumor venéreo transmisible en caninos. Casuística del Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria - Facultad de Medicina Veterinaria - Universidad Nacional Mayor de San Marcos (período 1998-2004). Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 43 p.
59. **Morales E, Gonzáles G.** 1995. Frecuencia del tumor venéreo transmisible en perros de la ciudad de México entre 1985 y 1993. *Vet Mex.* 26(3):273-275.
60. **Mostachio G, Pires E, Apparício M, Cardilli D, Vicente W, Toniollo G.** 2007. Tumor venéreo transmissible (TVT) canino no útero: Relato de caso. *Ars Vet.* 23(2):71-74.
61. **Moulton.** 1978. Tumors in domestic animals. 2nd ed. University of California. Berkeley and Los Angeles, USA. 465 p.
62. **Mukaratirwa S, Gruys E.** 2004. Canine transmissible venereal tumour: cytogenetic origin, immunophenotype, and immunobiology. *Vet Quart.* 25:101-111.
63. **Mukaratirwa S, Chitanga S, Chimatira T, Makuleke C, Sayi S, Bhebhe E.** 2009. Combination therapy using intratumoral bacillus Calmette – Guerin (BCG) and vincristine in dogs with transmissible venereal tumours: therapeutic efficacy and histological changes. *J S Afr Vet.Ass.* 80(2):92-96.
64. **Muller G, Kirk R, Scott D.** 1990. Dermatología en pequeños animales. 4ta ed. Argentina: Ed Intermédica. 1068 p.

65. **Murchinson E.** 2009. Clonally transmissible cancers in dog and Tasmanian devils. *Oncogene*. 27:S19-S30.
66. **Murchinson E, Wedge D, Alexandrov L, Marticorena B, Ning Z, Tubio J, Werner E, Allen J, De Nardi A, Donelan E, Marino G, Fassati A, Campbell P, Yang F, Burt A, Weiss R, Stratton M.** 2014. Transmissible Dog Cancer Genome Reveals the Origin and History of an Ancient Cell Lineage. *Science* 343(6169): 437-440.
67. **Murgia C, Pritchard J, Kim S, Fassati A, Weiss R.** 2006. Clonal origin and evolution of transmissible cancer. *Cell* 126(3):477-487.
68. **Ortega A, Acevedo M, Sauri C, Bolio M, Gutiérrez E.** 2003. Prevalencia de tumor venéreo transmisible en perros callejeros de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. *Rev Biomed* 14: 83-87.
69. **Pansawut S, Patrakrit T, Sirichai T, Suppawiwat P, Kaywalee C.** 2012. Treatment of canine transmissible venereal tumor using Vincristine sulfate combined with L-Asparaginase in clinical Vincristine – resistant cases. A case report. *Thai J Vet Med*. 42(1):117-122.
70. **Pigatto J, Stieven P, Bercht B, Albuquerque L.** 2011. Tumor venéreo transmissível na conjuntiva palpebral de um cão: relato de caso. *Ci Agr*. 32(3):1139-1144.
71. **Pineda J, Romero C, Mendoza G, García C, Plata F, Martínez A, Ramírez N.** 2010. Tumor Venéreo Transmisible en caninos del área metropolitana de la ciudad de México. *Rev Ci (Maracaibo)*. 20(4):362-366.
72. **Pires F.** 2008. Manifestação cutânea do tumor venéreo transmissível em cão: relato de caso. Trabajo para obtener el título de especialista de pequeños animales. Universidad Castelo Branco. Sao Paulo. 45 p.
73. **Prieto G, Errecalde C, Trotti N.** 1999. Farmacología clínica de los antineoplásicos. *Monograf Med. Vet*. 19(1-2):3-14.
74. **Ramirez R, García J, Nevárez A, Rodríguez L.** 2010. Tumor venéreo transmisible con metástasis a un hemangioma esplénico en una perra. *Vet. Mex*. 41(4):305-310.
75. **Rivera L, Nuñez L.** 2005. Tumor Venéreo Transmisible. En: Mucha C, Sorribas C, Pellegrino F. Consulta rápida en la clínica diaria. p 665-667.

76. **Rodriguez G.** 1978. Neoplasias en la especie canina. Estudio estadístico de 301 casos entre 1964-1977. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 35 p.
77. **Rogers K.** 1997. Transmissible Venereal Tumor. Compend. Continuing Edu. Pract Vet. 19(9):1036-1045.
78. **Said R, Silva L, Alburquenque A, Sousa E, Lawinsky M.** 2009. Efficacy and side effects of Vincristine sulfate treatment on canine transmissible venereal tumour. En: 34<sup>th</sup> World Animal Veterinary Congress - Sao Paulo, Brazil.
79. **Salamanca S, Santander A, Triana P, Romero S, Rondón I.** 2008. Tumor venéreo transmissible con metástasis pulmonar: Reporte de caso. Orinoquia 12(2):162-170.
80. **Sales F.** 2009. Estudo comparativo da eficacia de dois protocolos de tratamento do tumor venéreo transmissível em cães. Tesis de Magister en Medicina Veterinaria. Sao Paulo: Universidad do Oeste Paulista. 64 p.
81. **San Martín M.** 2005. Neoplasias caninas. Evaluación estadística. Periodo 1990 – 1995. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 44 p
82. **Santos F, Vasconcelos A, Moro L, Nunes J, Paixão T.** 2001. Apoptose no tumor venéreo transmissível canino: características morfológicas e evidenciación bioquímica. Arq Bras Med Vet Zoot. 53(5):557-562.
83. **Santos F, Vasconcelos A, Nunes J, Cassali G, Paixao T, Moro L.** 2005. O tumor venéreo transmissível canino – Aspectos gerais e abordagens moleculares (Revisão de literatura). Biosci. J Uberlândia. 21(3):41-53.
84. **Santos F, Vasconcelos A, Nunes J, Cassali G, Paixão T, Martins A, Silva S, Martins R, Moro L.** 2008. Apoptose no tumor venéreo transmissível canino durante as fases de crescimento e regressão. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60(3):607-612.
85. **Santos J, Barbosa M, Tenório A, Coehlo M, Rolim M, Tudury E.** 2008. Tumor venéreo transmissível em um canino com acometimento de pele. Med Vet Recife 2(2):39-43.
86. **Silva N.** 2009. Sulfato de Vincristina no tratamento do tumor venéreo transmissível frente á caracterização citomorfológica. Tesis de Magister en Medicina Veterinaria. Goiás: Universidad Federal de Goiás. 48 p.



87. **Soares J, Sousa H, Assunção R, De Aquino A, Nascimento F, Rodrigues F.** 2007. Tumor venéreo transmissível canino com localização intra-ocular e metástase no baço. *Acta Vet Bras.* 1(1):45-48.
88. **Sousa J, Saito V, Nardi A, Nodaski S, Guerios S, Bacila M.** 2000. Características e incidência do tumor venéreo transmissível (TVT) em cães e eficiência da quimioterapia e outros tratamentos. *Arch Vet Sci.* 5:41-48.
89. **Stockmann D, Ferrari H, Andrade A, Lopes R, Cardoso T, Luvizotto M.** 2011. Canine Transmissible Venereal Tumors: Aspects Related to Programmed Cell Death. *Braz J Vet Pathol.* 4(1): 67-75.
90. **Takano M.** 1964. Estudio Retrospectivo de 154 procesos neoplásicos en la especie canina. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 55p.
91. **Thomas P.** 2006. Alteraciones de la reproducción. En: Shaer M. *Medicina clínica del perro y el gato.* España: Elsevier. p 454-502.
92. **Trigo F, Mateos A.** 1993. *Patología general veterinaria.* 2da ed. México: Mc Graw-Hill. 242 p.
93. **Vasconcelos M, Rodriguez R, Celis, R, Nunes R, Peixoto W.** 2007. Avaliação epidemiológica, diagnóstico e terapêutico da transmissível tumor venéreo (TVT) na população canina servido no hospital veterinário da Ufersa. *Acta Vet Bras.* 1(1):28-32.
94. **Ventura F, Colodel M, Rocha N.** 2012. Exame citológico en medicina veterinária: estudio retrospectivo de 11468 casos (1994-2008). *Pesq Vet Bras.* 32(11):1169-1173.
95. **Vițălaru B, Crânganu D, Polter G.** 2012. Comparative therapeutic approach of canine transmissible venereal tumors (TVT). *Sci Works Ser Vet Med.* 58(4):412-419.
96. **VonHoldt B, Ostrander E.** 2006. The singular history of a canine Transmissible Tumor. *Cell* 126 (3):445-447.
97. **Zinkl J.** 2009. Tracto reproductor masculino: Próstata, testículos y semen. En: Cowell R, Tyler R, Meinkoth J, DeNicola D. *Diagnóstico citológico y hematológico del perro y el gato.* 3ª ed España: Elsevier. p 366-374.